

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y
TECNOLOGICAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

Determinación de la bioeficacia de los formulados de control biológico Vectobac[®] 37 WG (*Bacillus thuringiensis israeliensis*) y Natular[®] DT (*Saccharopolyspora spinosa*) en poblaciones de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* de Panamá.

Por:

Ligia I Reyes V.

Dan A Martínez V.

Elizabeth L Pinto P.

Trabajo de graduación presentado a la Escuela de Biología, como requisito para optar por el Título de Licenciatura en Biología con Orientación en Microbiología y Parasitología.

2022

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ



TRIBUNAL EXAMINADOR

Título de la investigación:

Determinación de la bioeficacia de los formulados de control biológico Vectobac® 37 WG (*Bacillus thuringiensis israeliensis*) y Natular® DT (*Saccharopolyspora spinosa*) en poblaciones de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* de Panamá.

Por:

Dan Alberto Martínez V. 8-838-1676

Elizabeth Lucila Pinto P. 8-877-624

Ligia Isabel Reyes V. 2-717-1821

Tesis presentada a consideración de la Escuela de Biología, como requisito para optar por el título de Licenciatura en Biología con Orientación en Microbiología y Parasitología.

Profesor: Dalila Montañez

Profesor: Ariel Magallón

Profesor: Raúl Carranza

Asesor Externo: PhD. Lorenzo Cáceres C.

Entidades Colaboradores:

Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

Departamento de Control de Vectores del Ministerio de Salud

AGRADECIMIENTO

Ante todo, le damos gracias a Dios todopoderoso y a nuestros padres, por darnos la vida y brindarnos su amor, y ser nuestra guía para seguir adelante.

Al Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, por brindarnos sus instalaciones para el desarrollo experimental y teórico de este trabajo.

Al MINSA, el departamento de control de vectores, por su colaboración en la colección de muestras para el estudio.

A los señores Mario Ávila y Evelio Gaona por su cooperación en la colecta de material biológico.

A la profesora Dalila Montañez, por ser nuestra asesora principal, por su paciencia y tiempo otorgado durante la parte experimental y corrección del trabajo de graduación. Y por brindarnos su apoyo incondicional hasta la culminación de la tesis.

Al profesor Ariel Magallón, por ser nuestro asesor y brindarnos todo su tiempo y apoyo durante la realización y revisión de la tesis, incluyendo la parte estadística.

Al profesor Raúl Carranza por ser nuestro asesor y compartir su conocimiento cada vez que se le solicitaba.

Al Dr. Lorenzo Cáceres, por su aporte y compartir sus experiencias y conocimiento en los temas relacionados a nuestra tesis, y colaborar con el espacio en el laboratorio de resistencia del ICGES.

Al Señor José Iturralde, por proporcionarnos los reactivos necesarios para la parte experimental de nuestro estudio.

A nuestros amigos y colegas Randhy Rodríguez y Doriestela Isaza por su cooperación y apoyo incondicional.

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a todas aquellas personas que de una u otra manera nos brindaron su apoyo en la realización y presentación de este. Que Dios le bendiga a cada uno de ustedes.

Muchas Gracias.

Abreviaturas

Ach: Acetilcolina

AchE: Acetilcolinesterasa

ACHe: Acetilcolinesterasa resistente o modificada

ATSDR: Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades

Bti: *Bacillus thuringiensis israeliensis*

CCE: Carboxicolinesterasa

CYP: Citocromo P450

Cyt: Proteína Citotóxica del *Bacillus thuringiensis israeliensis*

Cry: Proteína Cristal del *Bacillus thuringiensis israeliensis*

CL₅₀: Concentración letal media que causa el 50% de mortalidad

CL₉₀: Concentración letal que causa el 90% de mortalidad

DDT: Triclorodifenil-tricloroetano

DT: Tableta de aplicación directa

ECDC: Centro Europeo para la prevención y el Control de Enfermedades

EST: Esterasas

FR: Factor de Resistencia

FR₅₀: Factor de Resistencia al 50

FR₉₀: Factor de Resistencia al 90

F₁: Primera generación Filial

GABA: Receptores ácido gamma aminobutírico

GR: Gránulos

GST: Glutación transferasa

I.A: Ingrediente Activo

IC: Incompatibilidad Citoplasmática

I.E: Índice de Emergencia

INS: Instituto Nacional de Salud

ICGES: Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud

IRAC: Comité de Acción de Resistencia a Insecticidas

Kdr: Knock down resistance

L1-L2: Primer y segundo estadio larval

L3-L4: Tercer y cuarto estadio larval

MO: Citocromo P-450 Monoxigenasa

MIV: Manejo Integrado de Vectores

MINSA: Ministerio de Salud

NCVBDC: Centro Nacional para el Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores

OC: Organoclorado

OF: Organofosforado

OMS/ WHO: Organización Mundial de la Salud/ World Health Organization

OPS: Organización Panamericana de la Salud

PI: Piretroide

PNCA: Programa de Control de *Aedes*

RIDL: Liberación de insectos portadores de un gen letal dominante

RISL: Liberación de insectos portadores de un gen autolimitante

SIP: Proteína Insecticida Secretada

SIT: Técnica de Insectos Estéril

UNICEF: Fondo de Naciones Unidas para la Infancia

ULV: Ultra Bajo Volumen

VGSC: Canal de Sodio dependiente del voltaje

VIP: Proteína Insecticida Vegetativa

Vssc: gen del canal de sodio sensible a voltaje

WG: Gránulos dispersables en agua

YFV: Virus de la Fiebre Amarilla

Índice General

Agradecimiento	iii
Dedicatoria	iv
Abreviaturas	1
Índice General	3
Resumen	5
1.1 Introducción general	7
1.2 Antecedentes	11
1.3 Objetivos	12
1.3.1 Objetivos Generales:	12
1.3.2 Objetivos Específicos:.....	12
1.4 Hipótesis del trabajo	12
1.5 Justificación.....	13
1.6 Importancia Práctica.....	14
1.7 Novedad Científica	14
2.1 Importancia médica de (<i>Ae. aegypti</i> y <i>Ae. albopictus</i>) como vectores de arbovirosis.....	16
2.2 Generalidades de las especies <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762) y <i>Aedes albopictus</i> (Skuse, 1984) como agentes vectores de enfermedades.	20
2.3 La resistencia a los insecticidas químicos	22
2.4 Tipos de resistencia	22
2.5 Mecanismos de resistencia	22
2.5.1 Resistencia metabólica	23
2.5.2 Resistencia al sitio objetivo o sitios blancos	23
2.5.3 Resistencia por comportamiento o adaptación conductual	24
2.5.4 Resistencia a la penetración	24
2.6 Problema de la resistencia	25

2.6.1 Resistencia a temefos.....	26
2.6.2 Resistencia a Vectobac® 37 WG (Bti).....	29
2.6.3 Resistencia a Natular® DT (Spinosad).....	30
2.7 Medidas de control vectorial (<i>Ae. aegypti</i> y <i>Ae. albopictus</i>).....	31
2.8 Manejo Integrado de Vectores (MIV).....	32
2.8.1 Control ambiental y mecánico.....	32
2.8.2 Control químico.....	33
2.8.2.1 Clasificación de los insecticidas y modo de acción.....	34
2.8.3 Control biológico.....	36
2.8.3.1 <i>Bacillus thuringiensis var. israelensis</i>	37
2.8.3.2 <i>Sacharopolyspora spinosa</i>	39
2.9 Nuevas herramientas para el control de vectores.....	42
3.1 Selección de sitios de estudio.....	47
3.2 Recolección de material biológico.....	48
3.3 Establecimiento de la colonia en el insectario.....	48
3.4 Eclosión de posturas para los bioensayos.....	49
3.5 Agentes insecticidas utilizados.....	49
3.7 Estandarización de bioensayos.....	49
3.6 Procedimiento para la preparación de los insecticidas.....	50
3.8 Consideraciones éticas.....	52
3.9 Análisis estadístico.....	52
4.1 Resultados.....	54
5.1 Discusión.....	57
Conclusiones.....	64
Recomendaciones.....	65
Referencia Bibliográfica:.....	66
Anexos.....	85

Resumen

La resistencia es uno de los problemas técnicos más complejos en cuanto se refiere a la lucha de control vectorial en Panamá, desde la reinfestación del *Aedes aegypti* en 1985 y la aparición del *Ae. albopictus* en el 2002, estas dos especies de mosquitos han estado sometida a una continua y extensiva presión selectiva con diferentes grupos químicos de insecticidas aplicados por el Programa Nacional de Control de *Aedes* (PNCA) del Ministerio de Salud (MINSAL), en consecuencia, ante estas incidencias se realizó este trabajo de investigación para determinar la bioeficacia de los agentes alternativos de control biológico Vectobac® 37 WG y Natular® DT frente a las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en poblaciones de mosquitos vectores de arbovirus. La selección de los sitios de estudio de Río Abajo (RA), Caminos de Omar (CO) y Villa Cárdenas (VC) se realizó conjuntamente con el personal técnico de control de vectores de la Región Metropolitana de Salud y la Región de Salud de San Miguelito considerando los altos índices de infestación, casos de arbovirus registrados y aplicación frecuente de insecticidas. Mediante el uso de la metodología estandarizada por la OMS se logró establecer un perfil del estado de la resistencia del insecticida químico temefos, insecticida que ha sido utilizado por largos años para el control de *Aedes*. Igualmente, se evaluó los dos formulados comerciales alternativos a base de las bacterias *Bacillus thuringiensis israelensis* y *Saccharopolyspora spinosa*. En los bioensayos realizados a CL_{50} con Vectobac® 37 WG, *Ae. aegypti* demostró una alta susceptibilidad al agente biocida, manifestando $FR_{50} < 5$, con mortalidades aproximadamente por encima del 50% del umbral, *Ae. aegypti* VC registró un 73% de mortalidad. Para *Ae. albopictus* por su lado, el 47% de mortalidad se observó en *Ae. albopictus* RA, como el registro de mortalidad más alto.

Natular® DT también manifestó $FR_{50} < 5$, pero con mortalidades por debajo del 50% del umbral para ambas especies. *Ae. albopictus* RA el 25.3% de mortalidad fue el valor más elevado, mientras que *Ae. aegypti* RA solo generó un 22% de mortalidad.

Temefos a pesar de demostrar ser susceptible, con $FR_{50} < 5$, *Ae. aegypti* RA registró valores $FR_{50} = 4.38$ y *Ae. albopictus* VC, $FR_{50} = 4.00$, considerados valores muy cercanos en escala a una resistencia moderada. Por otro lado, solo *Ae. albopictus* registro valores por encima del 50% de mortalidad con un 55.3% de mortalidad para *Ae. albopictus* RA, mientras que un 8% de mortalidad para *Ae. aegypti* VC, que fue el valor más alto en esta especie.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción general

Los mosquitos son insectos que pertenecen a la familia *Culicidae*, que se encuentran en el orden Díptera incluyendo a moscas, jejenes, tábanos, moscas prietas, típulas, cénzalos, y otros. Los mismos proliferan en condiciones ambientales, de altas temperaturas, cambios bruscos de humedad y lluvias constantes, tal es el caso de especies que pertenecen a la familia *culicidae*, que en su gran mayoría son insectos hematófagos, que buscan alimentarse de sangre sea humana o de animales, proceso que genera molestias y en el peor de los casos actúan como vector de muchas enfermedades (Carrasco, 2018).

El género *Aedes* es el principal transmisor de enfermedades como dengue, fiebre amarilla, zika y chikungunya, estas zoonosis y antropozoonosis de alta prevalencia en las regiones tropicales y subtropicales implican un gran número de mosquitos de importancia epidemiológica, no obstante, nos enfocaremos en *Aedes* (Parra Henao, 2010; Uribe y Chiquete, 2017; Y et al., 2018).

A nivel mundial, *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus* son dos de las especies más importantes de mosquitos, en lo que se refiere a la transmisión de enfermedades. Ambas como especies invasoras, han colonizado exitosamente muchos sitios fuera de sus ámbitos nativos (Rey y Lounibos, 2015).

Aedes aegypti se ha expandido a nuevos territorios geográficos, reportando en la actualidad casos de fiebre amarilla en China y el resurgimiento en África Central, por otro lado el zika y el chikungunya también se ha propagado por todo el continente americano (F. Yang et al., 2020). En Panamá el zika y el chikungunya se ha mantenido con baja frecuencia, en el año 2021, acumulando cinco casos de la enfermedad por el virus chikungunya y, 13 por zika (MINSA, 2021a). Sin embargo, el dengue junto con la malaria se encuentra entre una de las enfermedades con mayor relevancia epidemiológica debido a su enorme crecimiento en todo el mundo (Uribe y Chiquete, 2017).

Las pocas epidemias de dengue atribuidas a *Ae. albopictus*, son principalmente dengue clásico. De hecho, todas las principales epidemias de dengue hemorrágico se han producido solo en áreas donde el *Ae. aegypti* se encuentra (Lambrechts et al., 2010). En las Américas en el año 2021 se han reportado 1,185,185 casos de dengue (OPS, 2021c). Panamá por su parte presenta 117,360 casos acumulados de dengue desde la epidemia de 1993 hasta el año 2021 (MINSa, 2021b; OPS, 2021c). Estas cifras son motivo de preocupación para los programas de salud pública del mundo con respecto al estado de la resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, debido que para prevenir estas enfermedades (dengue, Zika y Chikungunya), el uso de insecticidas sintéticos es su principal medida de control contra estos vectores (McAllister et al., 2012).

En nuestro país la lucha antivectorial llevada a cabo por el Programa Nacional de Control de *Aedes* (PNCA) contra poblaciones de *Aedes* desde 1985 hasta el presente se han realizado intervenciones contra estadios adultos con insecticidas sintéticos del grupo de los organofosforados (OF) los agentes químicos fenitrotión y malatión, y del grupo químico de piretroides (PI) los insecticidas deltametrina, ciflutrina y lambda-cihalotrina. Contra las larvas el OF temefos, se ha empleado hasta la fecha, debido a su baja toxicidad en animales y en humanos a dosis operacionales, sin embargo, presenta persistencia en el medio ambiente. Otros de los biocidas utilizados para larvas es el regulador de crecimiento Flubex® y el agente biológico *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Cáceres, 2017).

Cabe resaltar que uno de los obstáculos para el control del *Ae. aegypti* como vector del dengue en muchos países ha sido el desarrollo de la resistencia a una amplia variedad de insecticidas (temefos, malatión, permetrina, propoxur y fenitrotión) especialmente a los insecticidas piretroides, que simultáneamente con los organofosforados han manifestado resistencia en el sudeste asiático, América del Sur y el Caribe (Atencia et al., 2016; Kamgang et al., 2011; Vontas et al., 2012) Panamá no se queda fuera de esta situación, con el registro de resistencia en larvas de la especie *Ae. aegypti* en Chitré al piretroide deltametrina (Cáceres et al., 2012),

valores moderados de resistencia en larvas de *Ae. aegypti* al piretroide ciflutrina y alta resistencia al OFs pirimifosmetil y temefos en la misma especie de la 24 de Diciembre, como al organoclorado DDT pero en adultos (Cáceres, 2013). Recientemente también se detectó resistencia en dos cepas de Panamá al insecticida propoxur y al pirimifosmetil (Tuñon, 2019).

Por otro lado, para la especie *Ae. albopictus* a pesar de los pocos estudios descritos de susceptibilidad y/o resistencia; en Tailandia se ha evidenciado una disminución significativa de susceptibilidad a ciertos PI y OF. Malasia por su parte, los PI revelan perfiles de resistencia mínimos en comparación al *Ae. aegypti* (Intan et al., 2015).

Como se mencionó anteriormente el grupo OF; también registra reportes de resistencia, como es el caso de temefos, uno de los larvicidas más utilizado para el control de estadios acuáticos del vector del dengue en muchos países (Kamgang et al., 2011) documentándose resistencia para *Ae. aegypti* en Laos (Marcombe et al., 2018), Antillas (Goindin et al., 2017), Cuba (M. Rodríguez, Bisset, Hurtado, Montada, et al., 2016), El Salvador (Bisset et al., 2009), Brasil (Lima et al., 2011), e incluso en Panamá, con altos niveles de resistencia reflejado en distintos trabajos (Cáceres, 2013; Molina, 2020; Tuñon, 2019). Durante décadas, el principal método de control de las arbovirosis se ha basado en el tratamiento con insecticidas al intra y peridomicilio de casas, localizando los sitios de reproducción y limitando el contacto vector-huésped, por tal razón se necesitan nuevas estrategias de control ante el aumento de la resistencia a insecticidas y la propagación de artrópodos infecciosos a nuevas aéreas (Londono et al., 2016).

Bacillus thuringiensis var. israeliensis es uno de los larvicidas biológicos más aptos y disponibles para controlar poblaciones de *Ae. aegypti*, cuya efectividad ha sido demostrada en distintos programas de control de vectores, el efecto tóxico de este agente se basa en cristales de proteotoxinas que contienen un alto grado de toxicidad a larvas de dípteros de importantes géneros transmisores de arbovirus como *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* y *Simulium*. El spinosad por su parte es otro agente

biocida alternativo, que puede ser utilizado contra poblaciones de *Aedes*, es un insecticida altamente tóxico para los lepidópteros, dípteros y algunos coleópteros, debido a que posee un modo de acción único que involucra receptores nicotínicos de acetilcolina y receptores GABA (Bond et al., 2004; Torné et al., 2015). Estas cualidades hacia los insectos objetivo y la baja actividad contra muchos depredadores beneficiosos, humanos y otros animales, lo hacen considerablemente un insecticida eficaz (Dhakal et al., 2017).

Considerando el desarrollo de la resistencia a los insecticidas químicos como uno de los principales problemas técnicos del PCNA en la lucha antivectorial contra las poblaciones de *Aedes*, se planteó la realización de este estudio como una alternativa al uso de estos agentes químicos para evaluar la bioeficacia de los agentes larvicidas de control biológico Vectobac® 37 WG y Natular® DT y el agente químico temefos en cepas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* de los corregimientos de Omar Torrijos (Distrito de San Miguelito), 24 de Diciembre y Río Abajo (Distrito de Panamá) en la provincia de Panamá.

1.2 Antecedentes

En Panamá desde 1956, la lucha anti-vectorial contra poblaciones de mosquitos ha mantenido una continua presión selectiva a insecticidas organoclorados (OC), OP y PI (Cáceres et al., 2012). El programa de control de vectores de Panamá a partir de la re-infestación del *Ae. aegypti* en 1985 ha expuesto a esta especie a OPs con acción de características larvicidas (temefos) y adulticidas (malation y fenitrotión) (Dutary et al., 1989).

Sin embargo, los escasos estudios que se han generado a través de los años de resistencia y/o susceptibilidad en poblaciones de *Aedes*, se han enfocado solamente en evaluaciones de bioeficacia a poblaciones de *Ae. aegypti* al malation, aplicados en equipo pesado Ultra bajo Volumen (ULV) en localidades de San Francisco y El Cangrejo, con evidencias del 100% de su mortalidad (Echevers et al., 1975). Similar a pruebas en *Ae. aegypti* con este mismo insecticida en ULV, comprobando el comportamiento en 14 distritos distintos, demostrando limitados resultados de efectividad (Perich et al., 2000). No obstante, Bisset y colaboradores en el 2003 demostraron a través de bioensayos de susceptibilidad valores de resistencia del OP pirimifosmetil en larvas de Río Abajo y Victoriano Lorenzo.

Aedes albopictus es el invasor más reciente de Panamá; desde su introducción en 2002, proliferando principalmente las regiones rurales del país. Sin embargo, en las zonas urbanas de la ciudad de Panamá, el residente *Ae. aegypti* se puede encontrar solo o junto con *Ae. albopictus*. A escala macroecológica, la distribución actual de ambas especies de *Aedes* parece estar gobernada por una combinación de múltiples eventos de invasión en el Istmo de Panamá, dispersión asistida por humanos a través del sistema vial principal y competencia biológica entre ambientes rurales y urbanos (Eskildsen et al., 2018; Miller y Loaiza, 2015; Whiteman et al., 2019).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivos Generales:

- Evaluar la bioeficacia de los formulados Vectobac[®] 37 WG, Natular[®] DT y el grado técnico temefos contra tres poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* de la provincia de Panamá.

1.3.2 Objetivos Específicos:

- Determinar la bioeficacia de Vectobac[®] 37 WG sobre larvas de mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.
- Evaluar la bioeficacia de Natular[®] DT sobre larvas de mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.
- Determinar la bioeficacia del insecticida químico temefos sobre larvas de mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.

1.4 Hipótesis del trabajo

- Ha1. La bioeficacia larvicida de Vectobac[®] 37 WG es mayor que la de Natular[®] DT y temefos en las especie *Ae.aegypti* y *Ae. albopictus*.
- Ha2. La bioeficacia larvicida de Natular[®] DT es mayor que la de Vectobac[®] 37 WG y temefos en las especies *Ae.aegypti* y *Ae. albopictus*.
- Ha2. La bioeficacia larvicida de temefos es mayor que la de Vectobac[®] 37 WG y Natular[®] DT en las especies *Ae.aegypti* y *Ae. albopictus*.
- Ho. Los larvicidas Vectobac[®] 37 WG, Natular[®] DT y temefos, presentan igual efectividad en las especies *Ae.aegypti* y *Ae. albopictus*.

1.5 Justificación

El principal problema operacional que afecta el control del *Ae. aegypti* ha sido el desarrollo de la resistencia a una amplia variedad de insecticidas (WHO, 2000). América Latina y África poseen los índices más altos de transmisión vectorial en enfermedades tropicales, con los mayores porcentajes de población en riesgo por epidemias y epidemias de enfermedades transmitidas por mosquitos, particularmente malaria y dengue. En Latinoamérica la mayoría de las investigaciones relativas al control de vectores se reducen a estudios operativos de campo donde se evalúan herramientas desarrolladas por las grandes compañías productoras de agroquímicos, que en general financian y supervisan los ensayos. Estas evaluaciones solamente tienen como objetivo central el registro de productos y su introducción comercial para uso sanitario en el país donde se producen (Harburguer et al., 2016b).

El actual programa de control de vectores de Panamá se enfoca principalmente en *Ae. aegypti*, sin embargo, tanto esta especie como *Ae. albopictus* son vectores de los virus dengue, fiebre amarilla, zika y chikungunya. Por tal motivo la reducción de estas poblaciones es la única opción viable disponible para controlar la transmisión de estas enfermedades, entre las estrategias para reducir estos vectores incluyen la reducción de criaderos, saneamiento ambiental, control químico y el biológico (Cáceres et al., 2012b; Miller y Loaiza, 2015).

El Programa de Control de Vectores del Ministerio de Salud ha manifestado la gran necesidad de realizar investigaciones para determinar el estado actual de la sensibilidad de las poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en las distintas regiones endémicas del país, con el propósito de desarrollar nuevas estrategias para evitar o retrasar el desarrollo de la resistencia, disminuir considerablemente modificaciones en el uso de insecticidas, cambiar las estrategias utilizadas de control y reducir los costos en el programa de lucha anti-vectorial y la incidencia de la enfermedad en el país (Cáceres et al., 2013). Es importante señalar que el PNCA;

no cuenta con un programa de monitoreo y vigilancia de la resistencia que permita establecer el comportamiento de la resistencia en las poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. Los resultados de este trabajo brindarán información científica y técnica al PNCA del MINSA sobre el empleo de alternativas para el control de la población de estos vectores en Panamá.

El uso de alternativas biológicas como Vectobac® 37 WG y Natular® DT mitigaría o retrasaría la aparición de resistencia y resistencia cruzada entre moléculas de insecticidas, alargando la vida útil de los insecticidas en uso, facilitando la aplicación de medidas de forma temprana para la prevención del desarrollo de la resistencia y vigilar los perfiles de resistencia en el transcurso del tiempo con el fin de evaluar los efectos de las estrategias del manejo de la resistencia y evitar un efecto ecotoxicológico al ambiente y al humano debido al uso intensivo y extensivo de insecticidas.

1.6 Importancia Práctica

Los resultados de esta investigación aportan evidencia científica e información técnica al Departamento de Control de Vectores de Panamá del MINSA, que pueden contribuir en la elaboración, re-orientación y fortalecimiento de las estrategias de la lucha antivectorial y reducir los costos operacionales e impacto generado por el uso y manejo inadecuado, de las moléculas de insecticidas, prolongando la vida útil de estas moléculas aplicadas actualmente en el área de Salud Pública para el control de la transmisión de las diferentes arbovirosis.

1.7 Novedad Científica

Se aporta nueva evidencia científica sobre el comportamiento de la bioeficacia de los agentes biológicos Vectobac® 37 WG y Natular® DT y el estado de la susceptibilidad y/o resistencia de temefos en poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en Panamá.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importancia médica de (*Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*) como vectores de arbovirosis

La Organización Mundial de la Salud describió en 1976, a las arbovirosis como un grupo de virus que se encuentran presente en la naturaleza, debido a la transmisión biológica entre huéspedes vertebrados susceptibles por artrópodos hematófagos, de allí su nombre en inglés “Arthropod-Borne Viruses” o Virus transmitidos por artrópodos (Robles, 2020).

Las arbovirosis son un amplio grupo taxonómico que son transmitidos por una gran variedad de vectores como mosquitos, garrapatas, pulgas y otros más donde aproximadamente 150 causan enfermedades perjudiciales al hombre (Robles, 2020), estas arbovirosis se dividen en tres familias principales *Bunyaviridae* (Hantavirus, encefalitis de La Crosse y fiebre de oropuche), *Flaviviridae* (Dengue, fiebre Amarilla y virus del zika) y *Togaviridae* (chikungunya, mayaro) (Arredondo et al., 2016).

El virus del dengue (DENV) es una enfermedad que afecta a millones de personas de todas las edades, con síntomas que varían desde una fiebre leve hasta una fiebre incapacitante, acompañado de dolor intenso de cabeza, dolor detrás de los ojos, dolor en músculos y articulaciones, y eritema (OPS, 2022). Antes de 1970, sólo nueve países habían sufrido epidemias de dengue. No obstante, en la actualidad, los reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que esta enfermedad es endémica en más de 100 países de la región que incluyen África, las Américas, el Mediterráneo Oriental, Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental (Gorodner, 2016; Martínez de Cuellar, 2021). La Región Pacífico Occidental acumuló más de 183, 097 casos sospechosos de DENV (WHO, 2021, 2022). Registrando aumentos en países como Malasia, Filipinas, Singapur, Vietnam y Camboya. La Islas de Pacífico de Nueva Caledonia reportó 116 casos nuevos, en comparación al año 2020, donde solo para el mismo periodo notificó un total de 63

casos, por su parte, Wallis y Futuna hasta la semana epidemiológica 47 de 2021, notificó 68 casos (WHO, 2022).

China por su parte, su tendencia en 2021 fue por debajo de la tendencia estacional habitual, en comparación con años anteriores. La India, registró para el año 2021 un total de 123,106 hasta octubre (NCVBDC, 2022). Europa, sin embargo, en el 2021 solo notificó un caso autóctono de dengue (ECDC, 2012).

En las Américas para el año 2021 registró 1,185,185 casos de dengue (OPS, 2021c). Brasil observó la más alta proporción de casos de dengue con 559,587 casos (83%), seguido de Perú con 28,086 casos (4%) y Nicaragua con 18,943 casos (3%). Durante el mismo periodo, los países que registraron las más altas tasas de incidencia acumulada fueron los siguientes, en orden decreciente: Belice con 309 casos por 100,000 habitantes, Nicaragua con 283 casos y Brasil con 262 casos. De los 673,148 casos de dengue notificados en la región, 270,013 (40%) fueron confirmados por laboratorio y 772 (0,11%) fueron clasificados como dengue grave. El número más alto de casos de dengue grave se observaron en los siguientes países: Colombia con 212 casos, Brasil con 172 casos y Honduras con 164 casos. Adicionalmente, en el mismo periodo, se notificaron un total de 149 muertes en la región. Los cuatro serotipos del virus del dengue (DENV 1, DENV 2, DENV 3 y DENV 4) están presentes en la Región de las Américas. Detectando la circulación simultánea de todos ellos en Guatemala y México; mientras que, en Colombia, Guayana Francesa y Martinica circulan los serotipos DENV 1, DENV 2 y DENV 3; y en Paraguay, los serotipos DENV 1, DENV 2 y DENV 4 (OPS, 2021a).

El virus del Chikungunya (CHIKV) es otra de las enfermedades transmitida a los seres humanos por el mosquito *Ae. aegypti* y el *Ae. albopictus*, descrita por primera vez durante un brote en el sur de Tanzania en 1952, y que actualmente se ha identificado en Asia, África, Europa y, en las Américas, a finales del 2020 (OPS/OMS, 2021b). Los síntomas más comunes son la aparición súbita de fiebre, generalmente acompañada de dolores articulares (OPS/OMS, 2021b).

La OMS para África, registró un brote en Senegal, en la que representó, la primera circulación activa en la zona en cinco años. En Kenya notificó un brote de fiebre chikungunya que causó más de 1700 presuntos casos, mientras que la ciudad de Mandera (Somalia), el virus infectó a alrededor del 80% de sus habitantes(OPS/OMS, 2021a).

En la India hubo casi 65,000 casos, mientras que en Europa esta cifra se mantuvo por debajo de los 500 casos. El ECDC en el 2017 notificó 548 casos en 10 países, el 84% de ellos confirmados. Más del 50% se dieron en Italia. Por primera vez desde 2014, se volvieron a notificar casos autóctonos en Europa (en Francia y en Italia). Como en años anteriores, las regiones de Asia y de las Américas fueron las más afectadas por la fiebre chikungunya. En Pakistán, el brote se inició en el año anterior y fue persistente, causando 8,387 casos, mientras que en la India hubo 62,000 casos. También se notificaron brotes de fiebre chikungunya en el Sudán (2018), el Yemen (2019) y, más recientemente, en Camboya y en el Chad (2020) (OPS/OMS, 2021b).

En la Región de las Américas, en el año 2021, se notificaron 49,671 casos de CHIKV, durante el mismo periodo de 2021, el 99% de los casos fueron notificados por tres países: Brasil con 48,044 casos sospechosos de CHIKV (97%), Belice con 737 casos (1,5%) y Perú con 415 casos (0,8%). En el 2020 se observó una disminución en el número de casos de CHIKV notificados, coincidiendo con el inicio la pandemia de COVID-19. Notificando dos casos importados de CHIKV en la región de las Américas, ambos de los Estados Unidos de América para el año 2021. En el mismo periodo, se notificaron tres defunciones atribuidas a CHIKV, todas en Brasil. (OPS., 2022). Los países con las tasas de incidencia más altas fueron Belice con 182 casos, Brasil con 22,4 casos notificados y Bolivia con 1,9 casos (OPS, 2021a).

El virus del Zika (ZIKV) como también el dengue y fiebre amarilla es un flavivirus detectado por primera vez en Uganda, endémico de la región Africana y asiática, permaneció dormido durante más de 60 años, sin embargo en el 2007 surgieron

focos de infección en las islas del Pacífico, y a mediados del 2015 se propagó por todo el continente americano desde Brasil y declarando estado de alerta en las Américas por la asociación en aumentos de informes de anomalías congénitas (microcefalia) y el síndrome de Guillain-Barré (SGB).

Entre la semana uno y la semana 22 de 2021, se notificaron un total de 6,012 casos de Zika, incluida una defunción (notificada en Brasil) en la Región de las Américas; esta cifra es menor a lo observado en el mismo periodo del 2020 (13.624 casos, incluida 1 defunción) en 2021, hasta la semana 22, de los 6,012 casos de Zika notificados en la Región de las Américas, la más alta proporción de casos sospechosos se notificó en Brasil con 5,092 casos (85%), seguido de Guatemala con 522 casos (9%) y Paraguay con 112 casos (2%). Desde la primera detección en Brasil en marzo de 2015, se ha confirmado transmisión local en todos los países y territorios de las Américas, excepto por Chile continental, Uruguay y Canadá. En 2016, se notificaron un total de 651,590 casos y se observó una reducción significativa de la transmisión en los siguientes años (OPS, 2021b).

En Panamá en referencia a estas tres arbovirosis el MINSa de acuerdo con datos suministrados por el Departamento de Epidemiología registró un total de 1,945 casos por dengue, al concluir el 2021, acumulando un total de 117,360 desde la epidemia de 1993 (MINSa, 2021b; OPS, 2021c). Las principales regiones con casos, son la provincia de Bocas del Toro con 519 casos, Chiriquí 490; Comarca Kuna Yala 176; Panamá Metro, 159; Darién y Panamá Este con un total de 120 cada una (MINSa., 2022). En Panamá el CHIKV se ha mantenido con baja frecuencia, en lo que va del año 2021, acumulando solamente cinco casos de la enfermedad (MINSa, 2021a). En nuestro país la Alerta Sanitaria Nacional se declaró el 17 de febrero de 2016 con un total de 60 casos de ZIKV y más de 26 países con transmisión por parte de la picadura del vector *Aedes aegypti* y transmisión sexual (Maron, 2016; Mendez et al., 2016). El Zika en nuestro país solo ha reportado 13 por en lo que va en el 2021 (MINSa, 2021a).

2.2 Generalidades de las especies *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) y *Aedes albopictus* (Skuse, 1984) como agentes vectores de enfermedades.

Aedes aegypti y *Ae. albopictus* dentro de la clasificación taxonómica se encuentran ubicados en la orden Díptera, suborden Nematóceras y familia *Culicidae*. Consideradas como dos de las especies más importantes a nivel mundial en lo que respecta a la transmisión de enfermedades como dengue, fiebre amarilla, zika, chikungunya y otras arbovirosis (Christophers, 1961; Estrada y Craig, 1995; Galindo et al., 2017; G. Ponce et al., 2004; Ryan et al., 2018).

Ambas especies invasoras, en el caso del *Ae. aegypti* procedente de África específicamente de la región etíope y *Ae. albopictus* de Asia y Oceanía (Marquetti et al., 2008; Serpa et al., 2008). Estas poseen similitudes que le permiten coexistir en los mismos nichos dado que utilizan sitios de reproducción con características casi idénticas, donde rápidamente colonizan y proliferan de una manera asombrosa (Fantinatti et al., 2007). *Ae. aegypti* es un vector característico de áreas urbanas, en donde sus sitios de cría para los estadios acuáticos prevalecen en los contenedores artificiales, alimentándose exclusivamente de los humanos. *Ae. albopictus* se puede encontrar con mayor frecuencia en áreas periurbanas y rurales, alimentándose de una variedad de especies de mamíferos (incluidos los humanos) y aviarías (Kraemer et al., 2015).

Aedes aegypti se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales de América, África y Asia, así como sudeste de los EE.UU., las Islas del Océano Índico y el norte de Australia (ECDC, 2012). En las regiones templadas, la temperatura suele ser demasiado baja para la supervivencia de *Ae. aegypti*, especialmente durante el invierno. Sin embargo, la variación de la temperatura diaria, así como la amplitud (rango) de la temperatura diaria, no son necesariamente factores limitantes para la presencia de *Ae. aegypti* porque suele vivir cerca de asentamientos humanos y esconderse en refugios térmicos artificiales, que le permiten sobrevivir en regiones

con condiciones climáticas desfavorables (Ordoñez et al., 2020). La alta susceptibilidad al virus es otra característica importante de *Ae. aegypti*, probablemente lo volvió más susceptible al DENV fuera de África (Futami et al., 2020).

La presencia de *Ae. aegypti* en muchas regiones del planeta quedó demostrada por las epidemias de dengue o fiebre amarilla registradas desde hace más de 200 años. A principios del siglo XX, *Ae. aegypti* se hallaba en casi todo el continente. Hasta la década de 1950 alcanzó una distribución mundial entre los 35° S y 45 ° N, (Carbajo, 2003). *Aedes aegypti* fue reportado por primera vez en Panamá en 1912, durante la construcción del Canal de Panamá, y coincidiendo con las principales epidemias de fiebre amarilla. Para 1950, el programa de control de vectores de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) probablemente erradicó el *Ae. aegypti* de la mayor parte de las Américas, incluido Panamá, “a través de la fumigación agresiva con DDT”. Sin embargo, esta especie se restableció posteriormente, muy probablemente entre 1969 y 1985, y extendiéndose nuevamente (Eskildsen et al., 2018; MINSA, 1985).

Como se ha demostrado en múltiples estudios, el mosquito *Ae. aegypti* ha manifestado evidencias de su capacidad de adaptación ante cambios en el ambiente, y han mostrado plasticidad ecológica de acuerdo con los sitios de cría y reposo que le brinda el ecosistema urbano, así como la resistencia a los tratamientos insecticidas, por solo mencionar algunos ejemplos de sus mecanismos de adaptación (César et al., 2011).

Aedes albopictus se ha expandido durante los últimos 30-40 años hacia América, partes de África, norte de Australia y numerosos países en Europa (ECDC, 2012). Es una especie invasora que ha expandido su territorio a más del 40% de la superficie terrestre del planeta en los últimos 30 años, *Ae. albopictus* es un vector eficiente de todos los serotipos del dengue, enfermedad que ha aumentado su frecuencia en los últimos 30 años en las Américas (Miller y Loaiza, 2015).

Se colectó por primera vez en Panamá en 2002 y se estima que invadió más del 60% del país durante los siete años posteriores a su introducción inicial, el movimiento de bienes humanos, probablemente llantas usadas, parece haber promovido el rápido proceso de colonización de *Ae. albopictus* en Panamá (Eskildsen et al., 2018).

2.3 La resistencia a los insecticidas químicos

Según la OMS se ha definido la resistencia a los insecticidas como el desarrollo o la habilidad de una población de insectos de tolerar dosis de un insecticida, las cuales resultarían letales a la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie y es el resultado de la presión selectiva ejercida por el insecticida sobre genes inicialmente en baja frecuencia (Dusfour et al., 2019; OMS, 2017b; WHO, 1957).

2.4 Tipos de resistencia

La resistencia puede llegar a niveles no tan solo de una frecuencia muy elevada en las poblaciones de mosquitos, sino que también que se presente resistencia cruzada o resistencia múltiple. La resistencia cruzada es cuando un mecanismo de resistencia confiere resistencia a dos insecticidas de grupos diferentes, por ejemplo, la resistencia al derribo (Kdr) confiere resistencia a DDT y piretroides por igual. Por otro lado, la resistencia múltiple consiste cuando un insecto presenta varios mecanismos de resistencia que le confieren resistencia a diferentes grupos de insecticidas (Galindo et al., 2017).

2.5 Mecanismos de resistencia

Los dos principales mecanismos de resistencia son las alteraciones en el sitio blanco de acción y la resistencia metabólica o también llamada “incremento en la tasa de detoxificación de los insecticidas”. Si bien la resistencia metabólica es

causada principalmente por tres familias de enzimas, el citocromo P450, las esterasas y el glutatión S transferasas (GST), la resistencia en el sitio diana es conferida por una o varias mutaciones en el sitio diana del insecticida, una de las principales mutaciones del sitio objetivo es la mutación de "resistencia a la caída" (kdr) que confiere resistencia a los insecticidas piretroides y DDT.

Las mutaciones en tres posiciones de codones del gen del canal de sodio regulado por voltaje (VGSC) (I1011M / V, V1016G / I y F1534C) se han asociado principalmente con la resistencia a los piretroides y al DDT en varias poblaciones de *Aedes aegypti* (Ishak et al., 2015). Sin embargo, existen otros menos frecuentes como son la resistencia por comportamiento y por penetración disminuida a través de la cutícula (Ronald y Doris, 2013).

2.5.1 Resistencia metabólica

La resistencia metabólica es causada por una actividad elevada a través de la sobreexpresión o el cambio conformacional de las enzimas que están involucradas en los procesos de metabolismo, secuestro y excreción de los insecticidas. Las vías de desintoxicación pueden ser complejas y, aunque las principales enzimas metabólicas involucradas pertenecen a grandes familias de genes (citocromo P450 monooxigenasas [P450s], glutatión S-transferasas [GST] y carboxicolinesterasas [CCE]), es probable que otras familias estén involucradas. La resistencia metabólica es muy común en los mosquitos y se ha informado contra todos los insecticidas utilizados en la salud pública, así como contra los pesticidas agrícolas que podrían usarse para el control de vectores en el futuro (Moyes et al., 2017).

2.5.2 Resistencia al sitio objetivo o sitios blancos

La resistencia se atribuye también a un mecanismo en el cual los sitios blancos se alteran y esto hace que disminuyan la sensibilidad al ataque del tóxico (Bisset, 2002). Estas modificaciones pueden incluir la mutación Vssc, la insensibilidad de

la acetilcolinesterasa sináptica (AChE1) y la mutación en el receptor GABA (Gan et al., 2021).

2.5.3 Resistencia por comportamiento o adaptación conductual

Son modificaciones en el comportamiento de los insectos que ayudan a evitar los efectos letales de los insecticidas químicos. Esto se considera un factor contribuyente que permite a los insectos evitar la dosis letal de un insecticida (Auteri et al., 2018).

Estímulo dependiente: Requiere estimulación sensorial, incluye la “irritabilidad”. Es cuando un insecto es estimulado a dejar un ambiente tóxico inmediatamente cuando entra en contacto con una superficie tratada con un agente químico (Georghiou, 1972).

Estímulo independiente: No requiere estimulación sensorial, incluye la “repelencia”. Es cuando un insecto es estimulado a dejar un ambiente tóxico inmediatamente antes de que entre en contacto con una superficie tratada (Georghiou, 1972).

2.5.4 Resistencia a la penetración

La resistencia a la penetración ocurre cuando se desarrollan barreras en la cutícula externa de los mosquitos, lo que resulta en una absorción lenta de los insecticidas en sus cuerpos. Asimismo, los mosquitos resistentes absorben las toxinas a un ritmo mucho más lento que las cepas susceptibles; a su vez, la penetración reducida proporciona más tiempo para la desintoxicación al facilitar la acción de las enzimas metabólicas, por lo tanto, esta resistencia cuticular suele estar involucrada en la resistencia cruzada a múltiples insecticidas debido a su propiedad lipofílica. La sobreexpresión de las enzimas CYP, incluidas CYP4G16 y CYP4G17, facilita el depósito de hidrocarburos cuticulares en la epicutícula de los mosquitos resistentes a los piretroides, como *Ae. aegypti* (Gan et al., 2021).

2.6 Problema de la resistencia

A escala global, la distribución de estudios publicados sobre la susceptibilidad de los vectores del dengue a los insecticidas refleja la carga de morbilidad, con la gran mayoría de informes de Asia y América del Sur y muy pocos de Europa o África (Ranson et al., 2008). La sospecha de resistencia a insecticidas data de finales de los 80, donde para el año de 1946 ya se conocían aproximadamente 12 insectos resistentes; debido al aumento progresivo del uso de plaguicidas después de la Segunda Guerra Mundial se fueron sumando más especies de insectos y acumulado un total de 428 insectos y arañas resistentes (Hayes y Hansen, 2017).

La resistencia al DDT en insectos fue uno de los primeros casos documentados de resistencia (Hayes y Hansen, 2017). Estas consecuencias nocivas de la evolución de la resistencia a los insecticidas no solo se manifiestan en el daño a los cultivos y en el uso de aún más insecticida, sino que también los impactos adversos se reflejan sobre la salud pública, en insectos que actúan como vectores de enfermedades humanas (p. ej., malaria, fiebre amarilla, dengue y virus Zika) (Mulamba et al., 2014 , Dang et al., 2015a , Dang et al., 2015b , Dang et al., 2015c , Dykes et al., 2015 , Ishak et al., 2015 , Owusu et al., 2015 , Dalla Bona et al., 2016) . De tal forma que cuando poblaciones de vectores son presionadas multidireccionalmente, el desarrollo de la resistencia suele a ser más rápido (Galindo M. y Contreras, 2018). El uso intensivo y extensivo de estos agentes químicos indujo la aparición de resistencia a los insecticidas en insectos de importancia médica (Atencia et al., 2016).

Existen cuatro clases de insecticidas aprobadas y con solo dos modos de acción, inhibición de los canales de sodio (piretroides y DDT) o acetilcolina, esterasa (organofosforados y carbamatos). Este número limitado, además la OMS no ha aprobado nuevos insecticidas para el control de vectores en los últimos 30 años, ha aumentado considerablemente la amenaza de resistencia y la sostenibilidad de los insecticidas químicos para el control de vectores (David et al., 2013). Las

principales clases de insecticidas utilizados actualmente para el control vectorial son los OF, los carbamatos y los PI, por otro lado, *Ae. aegypti* ha desarrollado resistencia a una amplia variedad de insecticidas (Atencia et al., 2016). La resistencia de *Ae. aegypti* a los insecticidas de uso común se ha informado anteriormente en diferentes países de todo el mundo, describiendo mecanismos de resistencia a piretroides asociados al gen kdr y OF en Colombia (A. Aponte et al., 2019; Atencia et al., 2016), Brasil (García et al., 2018), México (H. A. Aponte et al., 2013; López et al., 2020), Gran Caimán (Harris et al., 2010), Tailandia (Thongwat y Bunchu, 2015), Indonesia (Hamid et al., 2017), Malasia (Leong et al., 2018) y China (Qiu et al., 2020), pese a estos estudios existe una necesidad urgente de estudios en la región de África y Australasia para esta especie debido a su escasez (Moyes et al., 2017).

Por otro lado, para la especie *Ae. albopictus* se encuentra muy pocos datos de resistencia a nivel global en los cuatro grupos principales de insecticidas, a excepción del sudeste asiático con casos a piretroides en países como India (Bharati et al., 2019) y China (Li et al., 2018; X. Yang et al., 2021), y el continente americano con resistencia a los organofosforados, reflejando una importante laguna (Moyes et al., 2017).

En Panamá como anteriormente se ha mencionado uno de los principales problemas técnicos que tiene el PNCA del MINSA, y que ha manifestado continuamente, es la necesidad de realizar estudios de resistencia para determinar el estado de susceptibilidad y/o resistencia de las poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en las diferentes regiones de transmisión de estos tres arbovirus en nuestro país.

2.6.1 Resistencia a temefos

Hoy en día muchos programas de control se ven amenazados por la resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (Ngoagouni et al., 2016a). Dado que en el mercado hay un número limitado de larvicidas, la resistencia a temefos ha sido un importante problema en varios países en los que se sigue aplicando como

principal ingrediente activo (Grigoraki et al., 2015). En la región Africana la Isla Santiago, Cabo Verde, solo se han obtenido resultados de la aparición temprana de resistencia a temefos, cipermetrina y deltametrina en poblaciones de *Ae. aegypti* causada por la fuerte presión de insecticidas utilizados por brotes de dengue (Rocha et al., 2015), África Central por su lado la especie *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* no registra resistencia a algún organofosforado (Ngoagouni et al., 2016b), sin embargo a pesar de la poca frecuencia en el uso de adulticidas OFs, Madeira y Sudán ha confirmado resistencia al malatión y fenitrotión para *Ae. aegypti* (Weetman et al., 2018).

En el continente asiático *Ae. aegypti* por su lado, presenta casos de resistencia al OF temefos en sitios de La India Occidental (Bharati y Saha, 2018), como también mutaciones puntuales en Indonesia al gen Ace-1 asociada a la resistencia al temefos (Hasmiwati et al., 2018), Laos (Id et al., 2019) y Tailandia con variaciones según el área; desde susceptible hasta resistente (Poupardin et al., 2014; Saeung et al., 2020). La resistencia a temefos para esta especie parece ser muy variable en el sur y sureste de Asia (Moyes et al., 2017). Asia también ha reportado varios registros de resistencia a OFs, tal es el caso de Pakistán, donde larvas de *Ae. albopictus* presentan una fuerte resistencia a agroquímicos a pesar de no estar expuestas directamente a estos productos aplicados a cultivos (Khan et al., 2011). *Ae. albopictus* también reveló resistencia al organofosforado temefos en larvas y en estadios adultos con malatión en la India (Yadav et al., 2015). No obstante, en Malasia ambas especies de *Aedes* presentaron resistencia moderada a temefos, pero con altos niveles de resistencia al malatión en *Ae. aegypti* (Intan et al., 2015).

América Latina y el Caribe, sin embargo, existen varios estudios que muestran en *Ae. aegypti* una fuerte resistencia a los insecticidas piretroides, carbamatos y organofosforados, que son correlacionados con actividades elevadas de al menos una familia de enzimas de desintoxicación (Marcombe et al., 2009). Poblaciones de *Ae. aegypti* en Guadalupe y San Martín exhiben una múltiple resistencia a los organofosforados (temefos y malatión) y piretroides (deltametrina) (Goindin et al.,

2017), Cuba también presenta resistencia a sus formulaciones técnicas de temefos, que es aplicado en la isla desde 1981 y en el municipio Boyeros (M. Rodríguez et al., 2020; M. Rodríguez, Bisset, Hurtado, Leyva, et al., 2016). El Salvador es otro país con una fuerte resistencia al temefos (Bisset et al., 2009). Contrario a Costa Rica donde las cepas de *Ae.aegypti* demuestran ser susceptibles aún a temefos debido a que su uso fue implementado en el 2007 para control larvario (Calderón y Troyo, 2016), Brasil por su parte en estudios realizados por Medeiros y colaboradores se observó altos niveles de resistencia al temefos y la deltametrina (PI) en *Ae. aegypti*, justificado debido al uso de un control químico intenso (Viana et al., 2017).

En México evaluaciones a organofosforados, con *Ae. aegypti* muestran susceptibilidad, sin embargo, si denotan una resistencia moderada a otro organofosforado (pirimifosmetil) en *Ae. aegypti* (Chino et al., 2014). Otro estudio realizado en México revelo resistencia al temefos no solo a la especie *Ae. aegypti*, sino también a la especie poco estudiada *Ae. albopictus* sin embargo con valores de resistencia moderados (López et al., 2020).

Por su parte Panamá, en la localidad de Río Abajo ya se demostró una alta resistencia al OF pirimifosmetil para la especie *Ae. aegypti*, (Bisset et al., 2003), en concordancia a otro estudio publicado en el 2013 por Cáceres, también demostró nuevamente la resistencia al primifosmetil en *Ae. aegypti*, como también temefos y clorpirifos en la cepa *Ae. aegypti* 24 de Diciembre (Cáceres, 2013), Tuñón también evidencio en poblaciones de *Ae.aegypti* en el registro de resistencia al pirimifosmetil, y una moderada resistencia a temefos en localidades de Parque Lefevre y Pueblo Nuevo, que podrían indicar la presencia de una resistencia cruzada entre pirimifosmetil y temefós (Tuñón, 2019).

Esto evidencia que el control químico es una herramienta más, pero sus resultados sobre el desarrollo de resistencia además de ser antiecológicos, molestos y caros son efímeros, por tal motivo si no se asocian a otros métodos de control ambiental,

mecánico, su eficiencia poco a poco quedará limitada (Ministerio de Salud Pública, 2011; Rozendaal, 1997).

2.6.2 Resistencia a Vectobac® 37 WG (Bti)

El uso de una sola proteína de Bti para el control de mosquitos se manifiesta en resistencia después de solo unas pocas generaciones en el laboratorio, demostrando que la resistencia puede aumentar en solo unas pocas generaciones cuando se usa una sola toxina de Bti (es decir, Cry 4Aa, 4Ba, 10Aa o 11Aa), por tanto, al utilizar las cuatro toxinas para Bti, la incidencia de resistencia es notablemente baja (Ramírez-Lepe y Ramírez-Suero, 2012). La selección de resistencia a Bti en mosquitos únicamente se ha logrado en condiciones de laboratorio, pero a pesar de haber sido utilizadas durante varias décadas, hay poca evidencia de la selección de resistencia a Bti en condiciones de campo o natural (Dahmana et al., 2020; Laurence et al., 2011). Barjac describió que Bti actúa sobre especies como *Aedes*, *Culex*, y *Anopheles* (Cerdán et al., 2011).

Un estudio realizado a tres colonias de *Ae. aegypti*, que implicaba a una cepa de laboratorio de Georgia (EE. UU.) y colecciones de Sri Lanka y Brasil, fueron sometidas con Bti durante 15 generaciones a CL_{50} , registrando $FR = 1,1$ para las cepas de laboratorio y Sri Lanka, que no fueron significativos, sin embargo, la cepa Brasil evidenció $FR = 2.0$ evidenciando un leve cambio, pero estadísticamente significativo. Esto plantea la hipótesis que partir de los primeros estudios con Bti el desarrollo de la resistencia evoluciona más lentamente y a niveles más bajos debido a que Bti produce un cristal paraesporal complejo con al menos tres toxinas Cry diversas y una toxina citolítica (Wirth, 2014).

Estas diversas toxinas pueden actuar en diferentes receptores, haciendo muy difícil la evolución de la resistencia a las cuatro toxinas (Goldman et al., 1986; Wirth, 2014). Al igual que el estudio anteriormente mencionado se han realizado

múltiples evaluaciones de susceptibilidad y/ o resistencia a los cristales de Bti en larvas, para las especies *Ae. aegypti* (Malasia, Brasil, Camerún, Arabia Saudita, Mayotte, Cabo Verde, Martinica, Laos, EE. UU) y *Ae. albopictus* (Camerún, Malasia, EE. UU, Italia, Grecia y China) demostrando una falta de resistencia al cristal completo de Bti, que es el ingrediente activo de los larvicidas disponibles en el mercado (M. Silva et al., 2021). Incluso tampoco se ha registrado resistencia cruzada con temefos y diflubenzuron, lo que respalda su uso sostenible de Bti para prácticas de control integrado (Carvalho et al., 2018).

Por otro lado, existe una excepción de un caso en *Culex quinquefasciatus* en Nueva York, (EE. UU), que hasta donde se conoce, no se ha informado resistencia a Bti en las poblaciones de campo de mosquitos y demostrando que no hay evidencia de que las proporciones de resistencia encontradas en esa especie fueran una consecuencia de los tratamientos con Bti (M. Silva et al., 2021; Suter et al., 2017). Otro aspecto importante a resaltar en varios estudios ha sido la especificidad de estos cristales a depredadores invertebrados y detritívoros que comen larvas de mosquitos muertos por Bti sin impacto negativo en su crecimiento y emergencia. (Laurence et al., 2011).

2.6.3 Resistencia a Natular® DT (Spinosad)

Presenta un modo de acción único, riesgo mínimo para la salud humana, con muy baja toxicidad en mamíferos y un perfil favorable al medio ambiente; pero es necesario estudiar a fondo el efecto adverso sobre organismos objetivos, debido a que otros autores han informado larvas del mosquito depredador *Toxorhynchites sp.* en neumáticos tratados con Natular® DT con 0,105%, sin afectar al depredador natural mencionado anteriormente, aunque estudios hechos por V. Santos y otros comprobaron un alto riesgo de toxicidad para las especies no objetivos como *Daphnia magna* a la dosis recomendada en campo (Garza et al., 2011; Santos et al., 2019); no se ha descrito ningún tipo de resistencia cruzada de insecticidas neurotóxicos a spinosad en poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (Baldacchino et al., 2015; Darriet y Corbel, 2006; Sadanandane

et al., 2009); aunque existe posibilidad de que se pueda desintoxicar por resistencia cruzada (Dos Santos Dias et al., 2017). No obstante, para la especie *Culex quinquefasciatus* si se ha observado resistencia en Natular® XRG (2.5% spinosad) después de las primeras 9 generaciones presuntamente por un mecanismo recesivo que podría estar involucrado (Su, 2016). Se ha hablado de capacidad con efecto repelente (ovicida) parcial sobre *Aedes* (Romi et al., 2006) pero resultados presentados por varios autores evidenció que su potencial no reside en su efecto ovicida sino en su alta eficiencia larvicida (Argueta et al., 2011; C. Pérez et al., 2007).

2.7 Medidas de control vectorial (*Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*)

Históricamente, el control de los virus transmitidos por mosquitos se ha basado en gran medida en los esfuerzos destinados a reducir las poblaciones de mosquitos. Estas actividades de control se enfocan en eliminar el hábitat de las larvas de mosquitos y adultos. Sin embargo, debido a que los mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* son especies que se reproducen en casi cualquier hábitat acuático, los esfuerzos de control de larvas es una tarea desafiante, igualmente al reducir las poblaciones de mosquitos adultos también fracasan (Petersen y Powers, 2016).

Ante estas disyuntivas organismos internacionales de salud promueven el uso de un manejo integrado de vectores para el control de poblaciones de mosquitos vectores. Las estrategias o programas de control de *Ae. aegypti* están basadas en el concepto de control integrado o manejo integrado de vectores, considerando el saneamiento ambiental y la educación sanitaria como herramientas principales a fin de lograr la participación comunitaria en la eliminación de criaderos positivos y potenciales de éste insecto; no obstante, a menudo es necesario el uso del componente químico para las operaciones de control (E. Pérez y Molina, 2009).

2.8 Manejo Integrado de Vectores (MIV)

Las guías de la OMS para el diagnóstico, el tratamiento, la prevención y el control del dengue presentan un modelo de control del vector denominado Manejo integrado de vectores (UNICEF, 2016). Estas medidas se basan en utilización de todas las metodologías tecnológicas y las gestiones adecuadas para lograr una efectiva supresión del vector de una manera rentable. La selección de estos métodos se obtiene con información detallada de campo sobre la ecología, bionomía y papel epidemiológico del vector. (OMS, 1983). Según el manual de la OMS los métodos de control de Vectores se dividen en cuatro categorías: Ambiental y mecánica (Vigilancia y reducción de fuentes), biológico y químico; sin embargo se planteó una quinta categoría, que incluye el control genético (Baldacchino et al., 2015; OMS, 1983; OPS, 2019d; WHO, 2012).

Sin embargo, puesto que un mismo vector puede transmitir más de una enfermedad (como el *Ae. aegypti*), el MIV puede servir para controlar varias enfermedades actuando sobre esa especie, en este caso el dengue, el chikungunya y el Zika. Algunas intervenciones son eficaces contra varias especies de vectores (p. ej., mosquiteros, toldillos impregnados con insecticidas) y así, a su vez, efectivas para el control de los vectores de la malaria y la leishmaniasis (OPS, 2019a).

2.8.1 Control ambiental y mecánico

Son modificaciones del medio ambiente que impiden o reducen al mínimo la proliferación y propagación del vector virus (*Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*), a el contacto hombre. Estos cambios sobre los hábitats de los vectores pueden ser temporales o duraderos y se centran en la eliminación de los criaderos artificiales más productivos (OPS y INS, 2005). El control de recipientes artificiales como envases desechables, llantas y barriles donde se cría el mosquito *Ae. aegypti*, es la piedra angular de cualquier esfuerzo para prevenir el dengue.

El control efectivo de criaderos de *Ae. aegypti* incluye el saneamiento ambiental, la participación social, la comunicación y educación en salud y el control químico y biológico. El desarrollo de una estrategia efectiva requiere el apoyo de varias disciplinas como entomología, ingeniería, psicología de comportamiento, comunicación/educación en salud y sociología/antropología médica (Rodríguez Cruz, 2010). En América Latina, se han realizado ejercicios de estimación de costos en el Brasil, Cuba, Nicaragua, Panamá, Puerto Rico y México, que se concentran en la estimación de los costos directos e indirectos de la enfermedad, pero pocos incluyen los costos asociados a la prevención, la vigilancia y, sobre todo, las medidas de control (OPS, 2019b).

2.8.2 Control químico

Diferentes grupos químicos han sido desarrollados a lo largo de la historia para el control de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* siendo todos ellos neurotóxicos organoclorados, carbamatos, organofosforados y piretroides. Son estos dos últimos los más utilizados; para el control de mosquitos en estadios acuáticos y adultos (Hernández, 2020). Existe una gran variedad de familias de insecticidas con diferentes modos de acción; formulación y dirigidas a diferentes etapas evolutivas del mosquito. Estos insecticidas pueden penetrar al cuerpo de los insectos por diferentes vías. Por contacto, el insecticida entra por la cutícula; vía oral, el insecticida es ingerido y absorbido en el intestino; por los espiráculos, por fumigaciones el insecticida entra al sistema respiratorio (Bisset, 2002; M. M. Rodríguez, 2008).

2.8.2.1 Clasificación de los insecticidas y modo de acción

Organoclorados (OC): Comprenden los derivados clorados del etano, entre cuyos compuestos principales se considera el DDT; los derivados clorados de los ciclodienos, que incluyen clordano, aldrina, dieldrina, heptacloro, endrina y toxafeno; y los compuestos relacionados con el hexaclorociclohexano como el lindano (de Fernícola, 1985).

Modo de acción: Generalmente, los insecticidas organoclorados actúan favoreciendo un incremento excesivo de la excitabilidad de las neuronas (sensibles a la despolarización). Esto produce una rápida y reiterada explosión de neuronas que se manifiesta como temblores, hiperexcitabilidad, convulsiones y parálisis eventual. Este tipo de neurotoxicidad se llama excitotoxicidad (Wasilewski, 2019).

Piretroides (PI): Son análogos sintéticos de las piretrinas, un conjunto de moléculas insecticidas obtenidas a partir del piretro, un componente que se extrae de las flores de determinadas especies de *Chrysanthemum* (ATSDR, 2003; Harburguer et al., 2016). Algunos de los más utilizados son la permetrina, deltametrina, cipermetrina y ciflutrina para tratamientos de pulverización residual y espacial, generalmente en anticipación o durante una epidemia (Smith et al., 2016).

Modo de acción: Los insecticidas piretroides son neurotoxinas que interactúan con el canal de sodio sensible al voltaje. Sin embargo, los canales de sodio de los insectos son más sensibles a los piretroides que los canales de sodio de los mamíferos. Los piretroides ejercen su efecto tóxico al prolongar la apertura del canal de sodio sensible al voltaje. Los piretroides pueden clasificarse como Tipo I, Tipo II o intermedios utilizando una variedad de criterios. En general, los piretroides de tipo I carecen de un grupo α -ciano, mientras que los piretroides de tipo II tienen un grupo α -ciano-3-fenoxibencilo (Smith et al., 2016).

Carbamatos: Son esterés N-metilados y N, N-dimetilados del ácido carbámico. Son insecticidas de amplio espectro y, dependiendo de los sustituyentes de la molécula pueden ser: insecticidas, herbicidas, fungicidas, nematocidas o molusquicidas. Se usan ampliamente en la agricultura, sobre todo, como insecticidas de amplio espectro. Algunos ejemplos son Kevin, baygon, carbarilo, carbofurán, aldicarb y metiocarb (Toledo, 2005).

Modo de acción: El efecto de los carbamatos es similar a los producidos por los insecticidas organofosforados (Gupta et al., 2011).

Organofosforados (OF): Es una categoría de sustancias orgánicas derivadas de la molécula de ácido fosfórico que forman parte de los insecticidas “de contacto”, absorbidos por medio de los lípidos del caparazón de los insectos (Carod, 2002; Orias, 2020). Dentro de los insecticidas más utilizados en esta categoría se encuentran, temefos para la eliminación de larvas durante el tratamiento focal y el fentión, fenitrotión y malatión para la eliminación de los mosquitos adultos (Bisset et al., 2009).

Modo de acción: así como los carbamatos afectan la acetilcolina, un importante neurotransmisor con función de comunicación y encontrado tanto en insectos como mamíferos. La acetilcolina liberada por la célula nerviosa inicia comunicación con otra célula nerviosa, pero esa estimulación debe finalmente detenerse. Para detener la comunicación, se elimina acetilcolina del área alrededor de las células nerviosas y la enzima, acetilcolinesterasa, descompone la acetilcolina. Los organofosforados bloquean la enzima e interrumpen el funcionamiento adecuado de las células nerviosas. Por lo tanto, estos insecticidas se denominan inhibidores de la acetilcolinesterasa (Gilbert., 2019). Actualmente el método más frecuente y efectivo para controlar el vector transmisor del dengue, es el uso de insecticidas en las fases larvaria o adulta. En el caso de la fase larvaria, la técnica más empleada es el tratamiento focal en los depósitos domésticos con el insecticida temefos, más conocido por su nombre comercial

Abate[®], el cual es un larvicida organofosforado muy eficaz e inocuo para los mamíferos y el hombre, que tiene una persistencia promedio de 100 días bajo ciertas condiciones (Mesa et al., 2013). La persistencia de un insecticida en un medio acuático implica combinación por hidrólisis, fotólisis, reacciones redox, degradación microbiana, volatilización y adsorción (Lacorte et al., 1996).

2.8.3 Control biológico

Es un importante método para el manejo de control de vectores y plagas, que consiste en la introducción de organismos vivos, que depreden o parasiten las poblaciones de especies que se pretende controlar y que compitan con ellas o las reduzcan de tal forma las mantenga por debajo de los niveles económicos (OMS, 2017a; Villarreal et al., 2018). En este contexto una de las estrategias consideradas no nocivas al medio ambiente para controlar poblaciones de larvas de vectores en sistemas hidrobiológicos, es la utilización de diversas especies depredadoras (Galavíz et al., 2016), de las cuales introduce organismos invertebrados como vertebrados (insectos, virus, bacterias, protozoos, hongos, plantas, gusanos, nematodos y peces) (Rozendaal, 1997), como control biológico, no obstante en este estudio nos referiremos solamente a los insecticidas de origen microbiano, Vectobac[®] 37 WG (Bti) y Natular[®] DT (spinosad) enfocados al control vectorial de mosquitos. Estos insecticidas microbianos a menudo presentan un modo de acción específico a ciertos grupos o especies de insectos, especificidad que se interpreta en el uso de microorganismos que no afectan naturalmente a los insectos beneficiosos (incluidos los depredadores o parásitos de plagas) en áreas tratadas. (Demain y Sanchez, 2009). Los productos naturales con aplicaciones industriales pueden producirse a partir del metabolito primario o secundario de organismos vivos (plantas, animales o microorganismos). Gracias a las mejoras en los programas de detección y las técnicas de separación y aislamiento el número de compuestos naturales descubiertos supera el millón (Bérdy, 2005). El control biológico de criaderos de *Aedes spp.*, en contenedores de agua, es una medida recomendada por la Organización Mundial de la Salud

(OMS), dentro de las estrategias de gestión integrada para el fortalecimiento de acciones de los programas de control del dengue y otras arbovirosis (M. H. Rodríguez, 2020).

2.8.3.1 *Bacillus thuringiensis var. israelensis*

Biológicamente Bti es un bacilo Gram positivo, de flagelación peritrica, que mide aproximadamente 3 a 5 μm de largo por 1 a 1,2 μm de ancho, de metabolismo anaerobio facultativo, quimiorganotrofo y actividad de catalasa, posee la capacidad de fermentar glucosa, fructosa, trealosa, maltosa y ribosa, como también de hidrolizar gelatina, almidón, glucógeno, esculina y N-acetilglucosamina. Dentro de la principal característica reconocida de Bti, esta su proceso de esporulación, el cual produce una inclusión parasporal que es formada por uno o más cuerpos cristalinos de naturaleza proteica y tóxico para distintos invertebrados (Castañet y Moreno, 2016).

Heimpel en 1967, consideró que las proteínas de Bti se clasifican en tres exotoxinas y una endotoxina, esta última es la principal responsable del efecto insecticida. La exotoxina beta (thuringensin) es la más importante seguida por la alfa y la gamma. Existen diferentes tipos de delta endotoxinas y, cada una de ellas se asocia a un grupo determinado de insectos. En la etapa de esporulación, Bti produce cristales parasporales útiles y abundantes llamadas proteínas Cry (por cristal) y Cyt (por citolíticas), denominadas conjuntamente como δ -endotoxinas, donde se han descrito más de 700 por poseer actividad tóxica en una variedad de órdenes de insectos y contra nemátodos.

Durante la etapa vegetativa de crecimiento se producen y se secretan al medio de cultivo proteínas Vip (por vegetative insecticidal protein) con actividad insecticidas contra coleópteros y lepidópteros. Posteriormente a esto también se ha descrito una proteína secretable adicional, con actividad insecticida también contra coleópteros. Esta proteína no posee semejanza con las proteínas Vip y ha sido denominada SIP (por secreted insecticidal protein) (Fernández, 2002).

La importancia de Bti radica en que es uno de los larvicidas más aptos y disponible para controlar *Ae. aegypti*, cuya efectividad se ha demostrado en los programas de control de vectores más sobresalientes en todo el mundo, sus ingredientes activos dotados de cristales que contienen proteotoxinas muestran un alto grado de toxicidad a larvas de dípteros de importantes géneros transmisores de arbovirosis como *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* y *Simulium*.

La propagación de *Aedes* en todo el mundo, y las acciones de control en regiones endémicas tropicales donde los mosquitos proliferan intensamente durante todo el año, lo hacen uno de los bio- insecticidas más versátiles, incluso por su desempeño fundamental en la mitigación de desarrollo de resistencia a insecticidas y la restauración y el mantenimiento de la susceptibilidad en otros insecticidas biorracionales (Carvalho et al., 2018; Su, 2016).

Las principales etapas del modo de acción del Bti inicia con la ingestión de los cristales por las larvas, seguido de la solubilización en el intestino medio y la liberación de las proteotoxinas que se convierten proteolíticamente en toxinas. Posteriormente, estas toxinas activadas interactúan con los receptores del intestino medio, insertándose en las paredes de las membranas y provocando la formación de poros que conduce a la permeabilidad celular y lisis osmóticas que dañan el epitelio y provocando la muerte del insecto (Carvalho et al., 2018).

Algunos trabajos descritos de esta bacteria se han realizado en África Central (Camerún y Gabón) para la especie *Ae. Aegypti* y *Ae. albopictus* donde ha demostrado eficacia en pruebas realizadas con Vectobac® WG (Bti) y temefos , debido a que estos larvicidas rara vez son dirigidos a estos países africanos, lo que explica la susceptibilidad persistente al temefos y al Bti en esta parte del mundo (Kamgang et al., 2011). Marcombe *et. al* también argumenta susceptibilidad en la región asiática de Laos para *Bti* y diflubenzuron, donde manifiesta una eficacia similar al temefos hasta por siete meses en condiciones de campo simuladas para *Ae. aegypti* (Marcombe et al., 2018).

Para Martinica en estudios previos realizados por el mismo Marcombè y colaboradores también revela susceptibilidad al Vectobac® 12AS (Bti) en nueve poblaciones analizadas (Marcombe et al., 2012). Cuba por su parte en evaluaciones de un nuevo formulado de Bti este provocó el 100% de mortalidad larvaria durante 11 semanas en *Ae. aegypti* (Rizo et al., 2019). Incluso en Key West, Florida, EE. UU se han probado de manera por aplicaciones aéreas del larvicida VectoBac® 37 WG en amplias áreas urbanas donde en un corto período de tiempo, demostró una eficacia en y efectividad para controlar *Aedes aegypti* (Pruszyński et al., 2017).

En Brasil resultados obtenidos, para ingredientes activos, de *Bacillus thuringiensis* y *Bacillus sphaericus*, ambos demostraron ser eficientes para el control de culícidos en grandes criaderos como por ejemplo estanques de tratamiento efluentes (Lopes et al., 2010). También se ha encontrado evidencia en Brasil donde demuestran que poblaciones expuestas a Bti resultaron susceptibles, incluidas doce poblaciones no tratadas y dos tratadas que habían estado expuestas a este agente durante más de diez años (Araújo et al., 2013). El Bti demostró ser efectivo en Colombia como bio-larvicida contra *Ae. aegypti*, tanto en bioensayos *in vitro*, como en albercas domiciliarias, a pesar del cloro residual contenido en el agua del acueducto.

El Bti es una alternativa viable para el control de mosquitos vectores de dengue en el área urbana de Florencia. Sin embargo, se debe profundizar en el estudio del efecto de variables físico-químicas y ambientales en la actividad larvicida de este bacilo (Ortegon y Carvajal, 2009).

2.8.3.2 *Sacharopolyspora spinosa*

Saccharopolyspora spinosa biológicamente representa un gran número de células que son aeróbicas, gram positivas, no resistentes al ácido, no móviles, filamentosas y diferenciadas en sustratos e hifas aéreas. El micelio aéreo es de

color rosa amarillento, y el micelio vegetativo es de color amarillo a marrón amarillento. Se produce un pigmento marrón soluble en algunos medios.

Las cadenas de esporas tienen una apariencia distintiva de cuentas (con más de 50 esporas). Posee una vaina de esporas presente y está cubierta de una especie de espinas cortas. Las esporas son oblongas y miden aproximadamente 1.1 μm por 1.5 μm . Las hifas aéreas tienen un gancho, bucle y una disposición espiral incompleta que se describe como 'rectus-flexibilis'. Estas bacterias son más similares a *Saccharopolyspora hirsuta* y *Saccharopolyspora erythraea* en morfología, sin embargo poseen características fisiológicas diferentes en comparación con otras especies de este género (Mertz y Yao, 2018).

Las características físicas de spinosad la definen como un bioinsecticida natural proveniente de la mezcla de 2 spinosinas, A y D, producida por la fermentación de la bacteria *Saccharopolyspora spinosa*. Las spinosinas son lactonas tetracíclicas de 21 carbonos a las que se unen 2 desoxiazucares. Las spinosinas A y D difieren entre sí por un solo sustituyente metilo en la posición 6 del policetido. Además de estas 2 spinosinas, se han identificado otras spinosinas naturales y se han sintetizado muchos derivados artificiales, conocidos como spinosoides (Deamicis et al., 1996; Jha et al., 2014; Romi et al., 2006).

Su modo de acción basado en la clasificación del Comité de Acción de Resistencia a Insecticidas (IRAC), las spinosinas son insecticidas clasificadas en el grupo 5 que actúan sobre el sistema nervioso central de los insectos, actuando como moduladores alostéricos de los receptores nicotínicos de acetilcolina. La acetilcolina es un neurotransmisor liberado en la sinapsis que, al unirse a los receptores de la neurona postsináptica, hace que se transmitan los impulsos nerviosos. El sitio objetivo para la spinosina son estas proteínas receptoras de acetilcolina. Es importante tener en cuenta que los neonicotinoides también son insecticidas que se unen a los receptores de acetilcolina, pero en otros lugares además de la spinosina. Los neonicotinoides actúan como agonistas, o imitan la

acción de la acetilcolina, ya que las spinosinas actúan como moduladores alostéricos o alteran la conformación de la proteína receptora y la hacen más activa. El resultado es la activación prolongada de las proteínas receptoras de acetilcolina, lo que provoca la transmisión continua e incontrolada de los impulsos nerviosos, induciendo excitación y temblores continuos en el insecto. Después de largos períodos de excitación, los insectos quedan paralizados por la fatiga muscular y posteriormente mueren. Modulador alostérico es el proceso posible en proteínas o enzimas que tienen sitios de modulación o también llamados sitios alostéricos. En estos sitios, las moléculas moduladoras se pueden unir de manera no covalente. Estas moléculas moduladoras pueden alterar la actividad de la enzima, haciéndola más activa (modulador positivo, como las spinosinas) o inhibiéndola (modulador negativo) (Marques, 2018; Su, 2016).

Según un estudio realizado en Tailandia las formulaciones de Spinosad DT (comprimido dispersable) y de 0,5% de GR (gránulos) a dosis de 0,25, 0,5 y 1,0 mg / l proporcionaron al menos un 90% de IE (Inhibición de emergencia) durante 20-62 y 41-62 días, respectivamente (Thavara et al., 2009). También demostró una actividad residual de 3,5 meses en envases naturales, el spinosad (= 0,5 mg / l) siendo un candidato prometedor para el control de *Ae. aegypti* en Martinica (Darriet et al., 2010); no solamente ha sido muy eficaz contra *Aedes* sino también para otras especies de mosquitos en ensayos de laboratorio; con la formulación en polvo que fue altamente activo contra el segundo y cuarto estadios de *Culex quinquefasciatus* después de 24 h de exposición, y conforme pasaba el tiempo fue aumentando a las 48 horas, como también en pruebas de campo en microclimas contra poblaciones naturales de mosquitos, por otra parte la formulación líquida produjo un excelente control de *Culex spp.* inmaduros durante 21 días en concentraciones de 0.05 mg (IA = Ingrediente activo) / litro y 35 días en 0.1 a 0.5 mg (I.A) / litro en tinas al aire libre (Jiang y Mulla, 2009).

Estos resultados fueron corroborados en un estudio posterior en México donde los análisis del presente estudio revelaron claramente que spinosad controló las

larvas de *Aedes spp.* y *Cx. quinquefasciatus*, hasta 91 días después de la aplicación (Garza et al., 2011), Bento y colaboradores definen a spinosad como un insecticida con un efecto residual prolongado en poblaciones de campo con diferentes niveles de resistencia. El mismo también ha demostrado ser un insecticida seguro y amigable al medio ambiente con organismos no objetivo como el *Daphnia magna*. En Connecticut mostró que las larvas se redujeron significativamente durante 5 semanas en cuencas de captura (Anderson et al., 2011). En Panamá se efectuó una evaluación en dos formulaciones comerciales (líquida y tableta) en condiciones de semi-campo donde se observó que las larvas expuestas de *Aedes aegypti* mostraron una elevada susceptibilidad al efecto tóxico de Natular® DT (ICGES, 2015).

2.9 Nuevas herramientas para el control de vectores

La modificación genética de insectos ha sido muy bien recibida en el campo de la agricultura por su impacto en el control de plagas que afectan a diferentes cultivos. A diferencia del uso intensivo de insecticidas, el inaparente impacto ecológico, su especificidad y la ausencia de resistencia (no confirmada) las convierte en candidatas muy prometedoras para el control de vectores. No obstante, su transferencia al campo de la salud humana genera algunas inquietudes entre la comunidad científica y suscita dudas en las áreas de salud pública y en los programas de control de vectores. Por lo mismo, requiere de una estrategia de comunicación muy efectiva para dar a conocer las evidencias, los beneficios y los riesgos inherentes, a fin de prevenir el rechazo de las comunidades destinatarias (OPS, 2019b).

Tecnologías emergentes son indispensables para controlar al vector y estrategias basadas en la técnica de insectos estériles (SIT), uso de mosquitos transgénicos (cepa *Ae. aegypti* OX513A), reduce a la mitad la vida útil de un mosquito adulto haciendo ineficiente la transmisión del virus que porte (Mendez et al., 2016). Por otro lado aunque no se considere un control genético sino biológico debido a su

complejidad, el uso de *Wolbachia* es una técnica en la que los mosquitos no son modificados genéticamente, y no implica ninguna manipulación ni modificación de los genes, la bacteria *Wolbachia* es una forma de esterilización de los mosquitos que culmina en la muerte de la mayoría de la progenie y en una disminución de la población total de mosquitos (Moreira et al., 2009; Uribe y Chiquete, 2017). *Wolbachia* funciona a través de la incompatibilidad citoplasmática; cuando un macho infectado se aparea con una hembra no infectada, esto la vuelve incapaz de producir descendencia viable, esencialmente esterilizando a la hembra (McGregor y Connelly, 2021).

La incompatibilidad citoplasmática (IC) provoca la incompatibilidad entre los huevos y el esperma de la misma especie, lo cual conlleva la muerte de la progenie durante la etapa embrionaria. Las diferentes cepas y variantes de *Wolbachia* tienen capacidades diferentes para inducir la IC. Existen dos tipos de IC: por un lado, la que se produce entre el esperma infectado con *Wolbachia* y el huevo de hembra no infectada, que comporta la inviabilidad de los productos (OPS, 2019b). Se han demostrado éxitos en la supresión específica de especies usando liberaciones masivas de machos en ensayos de semi-campo y de campo completo con *Aedes polynesiensis* en la Polinesia Francesa (O'Connor et al., 2012) y *A. albopictus* en Lexington, Kentucky, EE. UU. (Mains et al., 2016). Lanzamientos relacionados de *Ae. aegypti* con *Wolbachia* también han comenzado en California, Tailandia, Singapur y Australia (De León et al., 2021). De manera análoga a la Técnica del Insecto Estéril (SIT), el resultado esperado será la disminución sostenida de la población de la especie que se quiere controlar (Harburguer et al., 2016).

La técnica de insectos estériles (SIT) es un método en el que mediante irradiación los insectos machos se esterilizan y luego se realizan liberaciones por inundación para aumentar las posibilidades de que los machos estériles superen en número a los machos fértiles en el paisaje. Los machos estériles se aparearán con

hembras fértiles, lo que hará que toda su descendencia sea inviable y, en muchos casos, le impedirá volver a aparearse con un macho fértil (Dyck et al., 2021).

Liberación de insectos portadores de un gen autolimitante hoy conocida como RISL (release of insects carrying a self-limiting gene) y antes como RIDL (release of insects carrying a dominant lethal gene), es la producción de mosquitos con un gen autolimitante en su genoma, que interrumpe el desarrollo del vector (letalidad prematura o tardía) y les impide llegar a la fase adulta.

Estas estrategias permiten programar el momento del desarrollo que se quiere afectar. Su aplicación en programas de control tendría como propósito abatir a las poblaciones silvestres mediante la liberación de mosquitos macho portadores del gen letal (OPS, 2019c). A diferencia de la supresión de la población basada en SIT y *Wolbachia* para la tecnología RISL, los óvulos deben fertilizarse para el impacto posterior (Achee et al., 2019).

En Panamá una preocupación de la reducción de *A. aegypti* es que podría favorecer su reemplazo por *Ae. albopictus*. Cabe señalar que la supresión de una población por cualquier técnica podría fomentar la invasión y el reemplazo por competidores. En nuestro país, sin embargo, seis meses después que cesaron las liberaciones de *Ae. aegypti* OX513A, no hubo evidencia de expansión o aumento de la densidad de *Ae. albopictus* donde ambas especies convivían en simpatría (Gorman et al., 2016).

La resistencia a insecticidas se ha desarrollado en varias especies de mosquitos de importancia médica (Hemingway y Ranson, 2000; Naqqash et al., 2016; Ranson y Lissenden, 2016), sin embargo existe una creciente necesidad de involucrar estrategias novedosas, baratas y confiables para control de mosquitos (Benelli, 2015; Jeffries y Walker, 2015; Yakob y Walker, 2016). En muchos países donde las enfermedades transmitidas por mosquitos son endémicas, la carga financiera de los programas de control de vectores basados

en insecticidas tiene un alto costo para el uso generalizado, por lo tanto se han buscado alternativas ecológicas para ayudar a reducir la presión selectiva a la resistencia de insecticidas (Benelli et al., 2016).

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 Selección de sitios de estudio

Los sitios seleccionados para la colecta de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* fueron escogidos en conjunto con el Departamento de Control de Vectores de la Región Metropolitana y la Región de Salud de San Miguelito, considerando principalmente el registro de casos de dengue, altos índices de infestación y aplicaciones frecuentes de los insecticidas. (Figura 1).

- a) Villa Cárdenas (VC) 9° 3 ' 33.283 " N y 79 ° 32 ' 56.316 " O con 126 msnm en el Corregimiento Omar Torrijos del Distrito de San Miguelito en la Provincia de Panamá. Es el segundo distrito más poblado de la república, solo después del distrito de Panamá. Omar Torrijos es uno de los 9 corregimientos del Distrito de San Miguelito en Panamá.
- b) Caminos de Omar (CO) 9° 7 ' 32.791 " N y 79 ° 22 ' 30.279 " E con 206 msnm, ubicado en el corregimiento 24 de Diciembre de la provincia de Panamá, localidad. El mismo presenta características ecológicas diversas con sectores semi rurales y urbanos. Presenta una disposición inadecuada de los desechos sólidos orgánicos e inorgánicos que se convierten en focos de diferentes tipos de vectores y contaminantes que afectan la salud de la población.
- c) Río Abajo (RA), corregimiento del mismo nombre, en la provincia de Panamá, (9° 1 ' 3.9.7992 " N y 79 ° 29 ' 51.01656 " O con 9.0 msnm). Se diagnosticó el primer caso de Dengue en Panamá. Llama la atención el hecho que este corregimiento cuenta con una dotación de agua potable 24/7 (24 horas cada día los 7 días de la semana), y que arriba del 80% de los criaderos positivos que se encuentran son en recipientes útiles El otro 20% se distribuyen entre los recipientes no útiles (basura), y los criaderos naturales.
- d) *Ae. aegypti* Rockefeller (Rock), una cepa de laboratorio sensible a insecticidas, de origen caribeño, colonizada a principios de los años 1930 y suministrada por el laboratorio del CDC de San Juan, Puerto Rico.

3.2 Recolección de material biológico

Se realizaron búsquedas activas de fases inmaduras de (larvas y pupas) de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* junto al personal de control de vectores, en criaderos localizados en intradomicilio y peridomicilio de las viviendas y talleres, entre las 8:00 a.m. y las 12:00 p.m., durante los meses de enero a junio y de septiembre a noviembre del 2019; el material colectado fue transportado y etiquetado en bolsas de Whirl-pak® al insectario Abdiel Adames Palma del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud para el establecimiento de la colonia. Figura 2 [a-b].

3.3 Establecimiento de la colonia en el insectario

Las larvas de campo se colocaron en bandejas de plástico de 2 litros de capacidad con agua declorada y un 10% del agua de su criadero donde se alimentaron con comida de peces (Tetramín®). Las larvas y pupas colectadas fueron identificadas mediante claves taxonómicas (Bangs y Focks, 2006), figura 2 [c-f], las larvas fueron mantenidas en bandejas plásticas y luego transferidas a envases plásticos rotulados, los cuales se colocaron en jaulas de plástico, debidamente identificadas para la emergencia de los adultos. Las cepas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* fueron criadas y mantenidas en condiciones de laboratorio, con una temperatura promedio mínima de 28,5 °C (desviación estándar, DE = 0,5703) y máxima de 30,0 °C (DE = 0,0912), humedad relativa de 67,5 % (DE = 0,3939) y con fotoperiodo de 12:12 (día/noche), los machos adultos se alimentaron con una solución azucarada al 10% y las hembras adultas con un sistema de alimentación artificial que contenía sangre de equino para la producción de huevos (Figura 3 [a-f]). A las jaulas se introdujeron vasos de plástico con agua declorada y papel manilo como sustrato para la ovoposición. Después de que las hembras depositaran los huevos se dejaron las papeletas de 2 a 3 días para la embriogénesis de estos.

3.4 Eclosión de posturas para los bioensayos

Se colocó una papeleta de papel manila con un promedio de 500 huevos viables por bandejas acrílicas con agua de clorada y capacidad de 2.0 Litros; al siguiente día se verificó la eclosión y se retiró la papeleta. Posteriormente se suministró la cantidad de alimento de acuerdo a los principios recomendados por el (Cenaprece, 2015) e IPK, adaptado de (O. Pérez et al., 2004) y propuesto por (Consoli y Oliveira, 1994) el cual sugiere alimentar las larvas (L1-L2) con 0.2 mg/larva de comida, aumentando 0.1 mg cada día, hasta llegar a 0.6 mg/larva en los estadios tardíos (L3-L4). Al llegar a larvas de tercer estadio tardío o cuarto temprano se utilizaron para realizar los bioensayos.

3.5 Agentes insecticidas utilizados

a) Larvicidas biológicos

- Formulad VectoBac[®] 37 WG (*Bacillus thuringiensis var. israeliensis*) cepa AM 65-52 al 37.4 % suministrado por Sumintomo Chemical Latin America
- Formulad Natular[®] DT (Mezcla de spinosyn A y spinosyn B al 7.48%) Se deriva de la fermentación de *Saccharopolyspora spinosa* suministrado por Clarke Mosquito Control Products, Inc.

b) Larvicida químico

- Temefos: Grado técnico Supelco[®] (95.0%) (O, O, O, O'-tetrametil-O, O'-tio-di-p-fenileno) suministrado por PESTANAL[®] | Sigma-Aldrich.

3.7 Estandarización de bioensayos

Se realizaron diluciones seriadas de la formulación Vectobac[®] 37 WG (Bti) al 37.4% y Natular[®] DT (spinosad) al 7.48%, en agua destilada, sin embargo, para temefos al 95% su dilución se realizó en acetona grado analítico (Sigma Aldrich[®]).

Para los bioensayos realizados se utilizó el procedimiento descrito por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2005), empleando larvas de la primera generación F1 en vasos desechables de 24 oz. de capacidad, a los cuales se les agregaron 200 ml de agua de clorada y posteriormente se adicionó 25 larvas de tercer estadio tardío o cuarto temprano (aproximadamente 4 días después de la eclosión). Figura 5 [a-b]. Para determinar el rango de respuesta biológica, se evaluaron dosis seriadas logarítmicas desde 0.00001 hasta 1.0%, para detectar los porcentajes de mortalidad del insecto en el intervalo de cero a 100% con la cepa de referencia Rockefeller. Posteriormente se incluyeron de cinco a siete concentraciones intermedias en dicho intervalo para realizar el bioensayo completo. En total se realizaron cuatro repeticiones en días diferentes de cada concentración de insecticida y cada muestra se evaluó con 125 especímenes. Figura 5 [c]. Se aplicó la alícuota correspondiente de cada tratamiento a los vasos con agua reposada con larvas y al testigo de temefos se le aplicó únicamente 1 ml de acetona, o en el caso de Vectobac[®] 37 WG y Natular[®] DT a su testigo 1 ml de agua destilada. Figura 5 [d-e]. A las 24 h de exposición se determinó el porcentaje de mortalidad y se consideró muerta aquella larva sin capacidad de realizar movimientos verticales o desplazarse con facilidad. Figura 5 [f] (OPS y OMS 2011).

3.6 Procedimiento para la preparación de los insecticidas

Para los insecticidas biológicos se preparó la solución madre siempre al momento de realizarse cada nuevo bioensayo.

Temefos (Supelco[®]) al 95%

Se pesaron 100 mg del insecticida grado técnico en una balanza digital, donde posteriormente se le agregó 10 ml de acetona en un vial y se homogenizó con un agitador tipo vortex para preparar la solución madre al 1% y continuar con la preparación de las dosis logarítmicas seriadas desde 0.00001 hasta 0.1%. Seguido de esto se aplicaron las alícuotas correspondientes para cada vaso de agua con

larvas, de las concentraciones escogidas en base a la estandarización mencionada anteriormente. Figura 4 [a-c].

Vectobac® 37 WG (Bti) al 37.4%

Se pesaron 100 mg del insecticida de presentación de gránulos dispersarles en agua (WG) en una balanza digital, donde posteriormente se le agrego 10 ml de agua destilada en un vial y se homogenizó con un agitador tipo vortex para preparar la solución madre al 1% y continuar con la preparación de las dosis logarítmicas seriadas desde 0.00001 hasta 0.1%. Seguido de esto se aplicaron las alícuotas correspondientes para cada vaso de agua con larvas, de las dosis escogidas en base a la estandarización mencionada anteriormente. Figura 4 [d].

Natular® DT (spinosad) al 7.48%

Para este caso para obtener completamente el ingrediente activo del insecticida se macero la pastilla entera del insecticida en un mortero donde posteriormente se vertió lo triturado en un vial, y se le agrego 10 ml de agua destilada homogenizándolo con un agitador tipo vortex para preparar la solución madre al 1% y continuar con la preparación de las dosis logarítmicas seriadas desde 0.00001 hasta 0.1%. Seguido de esto se aplicaron las alícuotas correspondientes para cada vaso de agua con larvas, de las dosis escogidas en la estandarización.

Para el insecticida químico se preparó una solución madre la cual después de utilizada se refrigeraba a temperatura de -4°C . Cada bioensayo se realizó en diferentes días por cuadruplicado, con cuatro repeticiones por concentración donde se incluye el control. Las condiciones ambientales en el cual fue llevado a cabo el experimento fueron: Figura 4 [e-f].

- Temperatura ambiental fue de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Un fotoperiodo bajo condiciones naturales, siendo aproximadamente de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

3.8 Consideraciones éticas

Este estudio no necesitó la aprobación del Comité de Bioética del ICGES, porque no se obtuvo ninguna muestra e información personal de los responsables de las viviendas. Para la recolección del material biológico de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en las viviendas seleccionadas, cada residente recibió una explicación completa en relación con el trabajo que se realizaría, señalando el objetivo del estudio y su relevancia. Sólo después de recibir el consentimiento verbal de los dueños de las viviendas, se inició el trabajo de recolección del material biológico de *Aedes*.

3.9 Análisis estadístico

Con respecto a la estandarización de los bioensayos mencionados anteriormente, el máximo nivel de mortalidad aceptable para el control absoluto se definió con valores $\leq 12\%$ y la mortalidad en los tratamientos se corrigió con la ecuación de Abbott (1925). Los resultados de los ensayos se analizaron mediante SPSS® 23, Past (PAleontological STatistics) y GraphPad Prism versión 8.02, para obtener los valores de la CL_{50}/CL_{90} (Concentración letal que mata al 50% de la población expuesta), límites de confianza al 95% y la línea de respuesta log dosis-mortalidad (Probit). Para el diagnóstico de la resistencia se utilizó el criterio de *Mazarri y Georghiou, 1995* utilizados por la OMS (WHO 2005), $FR_{50/90} < 5$ susceptible, $FR_{50/90}$ entre 5 y 10 resistencia moderada y $FR_{50/90} > 10$ resistente. $FR_{50/90} = CL_{50/90}$ cepa en estudio/ $CL_{50/90}$ cepa Rockefeller.

De la misma manera también se realizó una prueba de Kruskal Wallis para obtener comparaciones de la mortalidad provocada por los insecticidas con ambas especies (*Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1 Resultados

Dentro de las pruebas de bioeficacia realizadas a tres agentes insecticidas con respecto a la cepa de referencia *Ae. aegypti* Rock, se observó que Vectobac® 37 WG, manifestó el 50% de mortalidad de sus valores medios a la concentración 0.02 mg/l y su 90% de mortalidad entre el 0.05mg/l. Por otra parte, Natular® DT, presentó la media del 50% de mortalidad entre el 0.006 mg/l y su 90% de su mortalidad entre el 0.013 mg/l. Con respecto a los bioensayos de susceptibilidad que se realizaron al insecticida químico temefos, se evidenció que la concentración que registró el 50% de mortalidad de sus valores medios, se reflejó específicamente al 0.006 mg/l y el 90% de mortalidad entre el 0.013 mg/l., con respecto al margen de error de las concentraciones presentan \pm un 5% (Cuadro 1). Por otro lado, no hubo una mortalidad de control superior al 5%, por lo que no fue necesaria la corrección con la fórmula de Abbott.

De acuerdo a los FR, obtenidos de las cepas de campo *Ae. aegypti* VC, CO y RA, todas resultaron ser susceptibles a Vectobac® 37 WG, Natular® DT y temefos. En cuanto a Vectobac® 37 WG, presentó $FR_{50} < 2$ en la cepa *Ae. aegypti* VC (0.75), *Ae. aegypti* RA (1.0) y *Ae. aegypti* CA (1.03). Similar al formulado biológico mencionado anteriormente Natular® DT presentó $FR_{50} < 3$ en la cepa *Ae. aegypti* RA (2.0), *Ae. aegypti* CO (2.14) y *Ae. aegypti* VC (2.57). No obstante, el agente químico temefos presentó $FR_{50} < 5$ en las cepas *Ae. aegypti* CO (2.17), *Ae. aegypti* VC (2.67) y la cepa *Ae. aegypti* RA (4.83) como el valor más alto. (Cuadro 2).

Por otro lado, Vectobac® 37 WG, también presentó $FR_{50} < 2$ para las cepas de *Ae. albopictus* CO (1.07), *Ae. albopictus* VC (1.28) y *Ae. albopictus* RA (1.34). Por su parte, Natular® DT presentó $FR_{50} < 3$, con valores similares para la cepa *Ae. albopictus* VC (1.57), y *Ae. albopictus* RA (1.57) y su valor más elevado en la cepa *Ae. albopictus* CO (2.29). Con respecto al temefos presentó $FR_{50} < 5$, en la cepa *Ae. albopictus* RA (1.0), *Ae. albopictus* CO (1.17) y presentando un aumento considerable en esta ocasión para la cepa de *Ae. albopictus* VC (4.0) (Cuadro 3).

En lo que se refiere, a las comparaciones de mortalidad generadas a una CL₅₀ con los tres agentes insecticidas, Vectobac® 37 WG fue el insecticida que mayor mortalidad causó, superando considerablemente el umbral de mortalidad en un 73% con respecto a la cepa *Ae. aegypti* VC, opuesto a *Ae. aegypti* CO con el 45% de mortalidad. Por un lado, Natular® DT demostró un 22.3% de mortalidad como mayor valor en la cepa *Ae. aegypti* RA y un 8.5% de mortalidad para *Ae. aegypti* VC como el más bajo. Sin embargo, el químico temefos fue el insecticida que registró valores más bajos de mortalidad en un 1.3% mortalidad para la cepa *Ae. aegypti* RA, esto asociado a un alto FR₅₀ mencionado anteriormente y su valor más alto en la cepa *Ae. aegypti* VC con el 8% de mortalidad (Figura 6).

En contraste con las comparaciones de mortalidad generadas en cepas de campo a una CL₅₀, con los agentes insecticidas. Vectobac® 37 WG registró en *Ae. albopictus* CO un 47% de mortalidad como mayor y la menor con el 18.5% de mortalidad en *Ae. albopictus* RA. Para Natular® DT por su lado, *Ae. albopictus* RA obtuvo el 25.3% de mortalidad y su menor mortalidad *Ae. albopictus* VC con un 2.8% de mortalidad.

Temefos por un lado, evidenció valores extremos con un 55.3% mortalidad en *Ae. albopictus* RA como mayor y un 0.3 % de mortalidad en *Ae. albopictus* VC como el valor más bajo de todos. (Figura 7).

Para la CL₉₀, utilizando Vectobac® 37 WG, la cepa *Ae. aegypti* VC y *Ae. aegypti* CO, conservaron el mismo patrón de mortalidad ascendente con un 99% de mortalidad en *Ae. aegypti* VC y un 80.8 % de mortalidad en *Ae. aegypti* CO como valor menor en 24 horas (Ver Figura 8). Opuesto a el insecticida mencionado anteriormente a una CL₉₀ se evidenció para temefos en *Ae. albopictus* CO un 86.3 % de mortalidad y un 85.8 % de mortalidad para *Ae. albopictus* RA como los valores más altos. (Figura 9).

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

5.1 Discusión

En la actualidad el desarrollo de la resistencia a los insecticidas sigue siendo uno de los principales obstáculos técnicos que se tiene en el programa de control de vectores de Panamá, por tal motivo para conocer, cómo puede estar afectando la efectividad del uso intensivo del químico temefos, debido a su uso a lo largo del tiempo, se desarrolló este estudio que evaluó este insecticida a partir de su forma grado técnico y no de su formulación comercial. Con el objetivo de establecer un perfil del estado de la resistencia en poblaciones seleccionadas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* tratadas con dos bioinsecticidas alternativos, el Vectobac® 37 WG y Natular® DT.

En referencia a los resultados obtenidos con la cepa *Ae. aegypti* Rock, como punto de partida para la selección de las CL₅₀ en ambas especies de mosquitos con Vectobac® WDG, podemos mencionar los trabajos de bioeficacia realizados a ocho poblaciones de *Ae. albopictus* en EE. UU, con Vectobac® WDG demostraron bioeficacia al formulado y se consideró el uso de la cepa *Ae. albopictus* ATM95 como cepa de referencia para futuros estudios de resistencia a insecticidas en *Ae. albopictus*, sin embargo, hace mención que cepas como la cepa de referencia Rockefeller o Bora-Bora utilizadas para las evaluaciones de *aegypti* son esenciales para la cuantificación de la resistencia a los insecticidas en todos los estudios. (Marcombe et al., 2014). Con base a lo mencionado anteriormente, podemos decir que los bajos valores de CL₅₀ observados en nuestro estudio con la cepa *Ae. aegypti* Rock (CL₅₀ = 0.020 mg/l), se asemejan o acercan a los de la cepa *Ae. albopictus* ATM95, (CL₅₀ = 0.070 mg/l) para la cepa de *Ae. albopictus*. Otro estudio realizado a poblaciones de *Ae. albopictus* de Suiza, Italia y Brasil demostraron susceptibilidad a Bti. Valores a CL₅₀ fueron muy parecidos, con concentraciones a 0,015 mg/l, mientras tanto, valores CL₉₀ variaron entre 0,030 y 0,036 mg/l. En relación al FR de *Ae. albopictus* de campo y la colonia de referencia *Ae. albopictus* ReLalb, estuvieron por debajo del rango establecido, lo que demostró que las poblaciones de campo permanecieron totalmente susceptibles

a Bti. Asimismo, los valores de concentraciones letales para *Ae.aegypti* SPaeg y *Ae.aegypti* RF, de Brasil se encontraron estrechamente cercanos a los observados con las colonias de referencia *Ae.aegypti* Rock y *Ae.aegypti* RecL (Suter et al., 2017). Por otra parte, en Brasil exposiciones realizadas a largo plazo con Vectobac® 37 WG a la cepa susceptible *Ae.aegypti* Rock y *Ae.aegypti* RecBti, sometida por 30 generaciones no reflejaron cambios significativos al agente biocida a las 24 horas con CL₅₀ y CL₉₀, manifestando en promedio el 74% de mortalidad en cada generación y alrededor del 15% de mortalidad después de la exposición a las 24 horas (Carvalho et al., 2018).

En lo concerniente a nuestros resultados obtenidos de las comparaciones de mortalidad entre las cepas de *Ae. aegypti* VC, *Ae. aegypti* CO y *Ae. aegypti* RA, se demostró la bioeficacia del insecticida Vectobac® 37 WG contra las poblaciones de *Ae. aegypti* expuestas a CL₅₀, lo que lo destaca su alta efectividad expresada al 73% de mortalidad, con respecto al Natular® y temefos, superando el umbral de respuesta de los valores medios de mortalidad probada con la cepa de referencia *Ae. aegypti* Rock. Evaluaciones realizadas en Honduras manifestó bioeficacia a concentraciones operativas (0.5 – 5 mg/L) de *Bacillus thuringiensis var israelensis* Vectobac® 37 WG contra larvas de *Ae. aegypti* de estadio III y IV (J. Ponce et al., 2018). Sin embargo, en contraste de las concentraciones probadas con las cepas *Ae. aegypti* a CL₅₀ en *Ae. albopictus*, se observó que el biocida Vectobac® 37 WG demostró un cambio significativo en las mortalidades presentadas, con el 47% mortalidad como valor más alto para la cepa *Ae. albopictus* CO y un 18.5% de mortalidad para *Ae. albopictus* RA como la más baja. En lo que se refiere a las dosis registradas para una CL₉₀ se registró el mismo patrón de crecimiento exponencial tanto para *Ae. albopictus* como *Ae. aegypti* en las diferentes cepas.

Sin embargo, ensayos realizados en Azuero, a pesar de manifestar que VectoBac® 37 WG fue altamente bioeficaz contra ambas especies en las cepas de La Villa *Ae. aegypti* (FR₅₀ 0,8 x), La Villa *Ae. albopictus* (FR₅₀ 1,1 x), Llano Bonito *Ae. aegypti* (FR₅₀ 1,3 x) y Llano Bonito *Ae. albopictus* (FR₅₀ 1,3 x) con un FR₅₀ ≤ 5, (Molina,

2020), sus resultados son parciales al no mostrar los porcentajes de mortalidad por especie lo que se dificulta diferir cual especie sobrepaso el umbral a CL₅₀.

Las diferencias en nuestros resultados de mortalidad con respecto a Vectobac® 37 WG para *Ae. albopictus* y *Ae. aegypti*, quizás estén vinculados con algún tipo de efecto de competencia (competencia intra-específica) encontrada a los sustratos necesarios para el desarrollo, en virtud del cual la larva incorpora menos unidades de principio activo a condiciones específicas (Orlando et al., 2012), deduciendo que nuestro formulado empleado contiene una materia inerte desconocida. Las diferencias entre la tasa de descomposición y el valor nutricional de los recursos se indican como factores importantes para la productividad de los mosquitos (Dieng et al. 2002). Barrera (1996) mostró que el uso de hojas como sustrato, en lugar de recursos ricos en proteínas (p. ej., polvo de hígado) cambia la ventaja competitiva de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (Braks et al., 2004; Juliano, 2009; Lounibos, 2007; Rey y Lounibos, 2015) conforme el tipo de nutrientes que obtenga el espécimen de un sustrato, así será su desempeño en resistir inanición. La explicación a este fenómeno quizás se deba que la resistencia al hambre después de 3,5 días de alimentación puede mostrar que especie pudo adquirir más energía en un sustrato alimentario en particular según Barrera (1996). Se ha reportado que *Ae. albopictus* es un competidor superior en su estado larval con respecto tanto a *Ae. aegypti* como a *Cx. pipiens* (Harburguer et al., 2016). Con base a experimentos realizados en Brasil, se constató que la radiación solar, la temperatura y la lluvia interfieren en la eficiencia del Vectobac® 37 WG, pero a pesar de eso, las esporas de Bti tienen un gran poder residual a través del cadáver de larvas, lo que influye en la eficacia del biolarvicida por mucho más tiempo, ya que mantiene al microorganismo en ambientes por períodos prolongados (A. S. da Silva et al., 2014).

Por otro lado, Natular® DT a CL₅₀ no mostró valores de mortalidad superiores al 50% en las cepas *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* probadas en nuestro estudio de las diferentes localidades. En cuanto a las CL₉₀, tampoco supero el umbral del 90% de mortalidad. Estos resultados son muy diferentes a los estudios efectuados en la India, a concentraciones de 0.025 mg/l con spinosad, donde se demostraron

mortalidades en las cepas de campo *Ae.aegypti* (85.74%) y *Ae.aegypti* de laboratorio (96.24%) (Sisodiya et al., 2021), sin embargo, la única similitud manifestada con nuestros resultados, se observó con la cepa *Ae.aegypti* Rock, que registró el 94.25% de mortalidad a CL₉₀. Honduras por su parte, registró una bioeficacia de un 100% de mortalidad a las 72 horas respecto a la cepa *Ae. aegypti* Rock y *Ae. aegypti* San Marcos, tratadas con Natular[®] DT (USAID, 2014). Sin embargo, estudios de laboratorio (Natular[™] 20EC) y semi-campo (Natular[®] DT) a cepas de *Ae. aegypti* en Brasil demostraron estadísticamente, que no existe diferencias significativas, a los distintos periodos de tiempo evaluados (de 24, 48 y 72 horas), determinando las 24 horas como tiempo de exposición adecuado para la evaluación de los formulados Natular[®] 20EC y Natular[®] DT. Adicionalmente se evidenció, la susceptibilidad al formulado en larvas a Natular[™] 20EC (CL₅₀) con variaciones de dosis desde 0.023 mg/L para *Ae. aegypti* Rock hasta 0.093 mg/l para las poblaciones de campo *Ae. aegypti* Marilia. Presentando CL₅₀ mayores en su cepa *Ae. aegypti* Rock, pero con menores variaciones de CL₅₀ en poblaciones de *Ae aegypti* de campo. Igualmente, se realizó ensayos de semicampo con registro a las 24 horas para evaluar Natular[®] DT, el cual proporcionó un nivel de mortalidad igual o superior al 80% en cepas de campo de *Ae. aegypti* durante un período de evaluación de siete a ocho semanas (Dos Santos Dias et al., 2017). Otros resultados demostraron que la formulación Natular[®] DT puede usarse eficazmente contra *Ae. aegypti* a concentraciones operativas de 0.5 mg/l en frascos de 200 litros (Thavara et al., 2009), como a también se corroboró que spinosad no refleja efectos ovicidas (C. Pérez et al., 2007).

Brevemente, infiriendo los altos valores de FR₅₀ de Natular[®] DT contra ambas especies realizados en Azuero, para La Villa *Ae. aegypti* (FR₅₀ ≤ 5); La Villa *Ae. albopictus* (FR₅₀ 7 x), Llano Bonito *Ae. aegypti* (FR₅₀ 5,2 x) y Llano Bonito *Ae. albopictus* (FR₅₀ 5,8 x), (Molina, 2020), se podría interpretar que presentaron bajos niveles de mortalidad, semejantes a nuestros resultados.

Estos resultados con respecto a Natular® DT podrían deberse al macerado del formulado, que aminoró la bioeficacia de su ingrediente activo debido a que DT es una formulación única, que consta de dos capas homogéneas. Cada capa tiene una concentración diferente de spinosad y un perfil de liberación diferente. La primera capa es efervescente, lo que facilita la liberación rápida de spinosad para la concentración y acción iniciales. La segunda capa que contiene una concentración diferente de spinosad asegurará una liberación lenta del ingrediente activo para un control duradero de las larvas de mosquitos (Thavara et al., 2009).

Por su parte, con el agente químico temefos estudios recientes en Panamá, a CL₅₀, detectaron resistencia en la cepa de *Ae. aegypti* Pueblo nuevo (FR₅₀ = 6.21) y *Ae. aegypti* Parque Lefevre (FR₅₀ = 7.24), con susceptibilidad en *Ae. aegypti* RA de (FR₅₀ = 2.95) y las otras cepas de campo evaluadas (Tuñón, 2019), por su parte, se observó un aumento considerable y progresivo de las poblaciones *Ae. aegypti* RA con respecto a el FR₅₀ = 4.83, expuesto en nuestros resultados a la cepa *Ae. aegypti* RA. También mencionar que los estudios realizados en Azuero presentaron FR₅₀ < a 2, en *Ae. aegypti* (Molina, 2020). Con respecto al FR, algunos estudios realizados en Argentina a poblaciones de *Ae.aegypti* enuncian que estos valores son indicativos de una resistencia incipiente (Bisset et.al 2014). Estudios en Brasil, también manifiestan que temefos debería ser reemplazado cuando el FR > 3, debido a que valores por encima de éste reduce su eficacia a tan solo 4 semanas (Montella, et. al. 2007). Previo a los estudios realizados en Panamá en el 2019, estudios de resistencia en larvas de la misma localidad muestreada, cepa *Ae. aegypti* en RA, detectó resistencia al insecticida Pirimifos-metil (Bisset et al., 2003), mismo grupo de agente químico que conforma los OPs, deduciendo un posible indicio de resistencia cruzada por parte de los insecticidas. Referente a la especie *Ae. albopictus*, el 0.3% de mortalidad, fue representado a CL₅₀, en la cepa *Ae. albopictus* VC con FR₅₀ = 4.00, el cual en Panamá se detectó solo FR₅₀ = 6.00 en *Ae. albopictus* Parque Lefevre (Tuñón, 2019). Referente a las pruebas realizadas en Azuero ambas especies de *Aedes* resultaron ser susceptibles (Molina, 2020).

No obstante, está bien establecido que la resistencia puede desarrollarse rápido en algunas poblaciones y lentamente en otras y su desarrollo depende de factores intrínsecos a la especie y operacionales, esto último referido al manejo al manejo y aplicación del programa de control, principalmente relacionado a la frecuencia y dosis en aplicaciones de insecticida (Georghiou, 1977).

El uso continuo y la distribución desigual de insecticidas contra una especie en particular, en consecuencia, tienen la posibilidad de que una proporción de la población pueda tolerar el efecto tóxico del insecticida debido a varios factores, estos factores podrían ser las peculiaridades ambientales, de la población objetivo, la baja efectividad y la aplicación inadecuada del insecticida. La resistencia en *A. albopictus* está creciendo frente a los insecticidas que se utilizan con frecuencia en su control y se reporta en diferentes países (Rahim et al., 2017).

En general una de las razones de las diferencias de mortalidad en nuestro estudio por parte de Vectobac® WG, Natular® DT y temefos es mencionado por algunos autores, que atribuyen estas diferencias a causa de la vía de acción de los compuestos, ya que los productos químicos actúan directamente por contacto y los compuestos bacterianos actúan por ingestión u otro modo de acción. Este último modo de acción depende de factores fisiológicos, por ejemplo, las tasas de alimentación según las etapas de desarrollo y la disponibilidad de alimentos. Además, los compuestos químicos se sintetizan uniformemente con altos niveles de pureza, mientras que los compuestos microbianos son productos de procesos biológicos que están sujetos a una mayor variación (Carvalho et al., 2018; Jaric et al., 2008). Otro factor muy importante de nuestros resultados a los expuestos por otros estudios podría relacionarse a la diversidad genética dentro de las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en Panamá, ya que es la base de su capacidad para competir por el hábitat e interactuar a nivel intra-específico, lo que también podría interferir con las estrategias de control de vectores, como la supresión de vectores (Eskildsen et al., 2018).

Dicho de otra manera, se cumple una de nuestras hipótesis alternas demostrando que la bioeficacia larvica de Vectobac® 37 WG es mayor que la de Natular® DT y temefos en las especie *Ae.aegypti* y *Ae. albopictus*.

Conclusiones

- Los agentes biocidas de control biológico Vectobac[®] 37 WG y Natular[®] DT mostraron su bioeficacia contra las poblaciones de *Ae.aegypti* y *Ae. albopictus*.
- La bioeficacia mostrada por Vectobac[®] 37 WG y Natular[®] DT contra *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, hace que estos productos puedan ser considerados como alternativos por el PNCA ante la aparición de problemas de resistencia con el agente químico temefos.
- Con base a la alta bioeficacia observada del Vectobac[®] 37 WG contra *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* y considerando su modo de acción, su uso adecuado presenta un bajo riesgo en el desarrollo rápido de la resistencia en poblaciones de mosquitos sometidas a una presión selectiva.
- Se logró evidenciar con los resultados obtenidos que las poblaciones de *Ae. aegypti* RA y *Ae. albopictus* VC se mantienen susceptibles al insecticida temefos, sin embargo, presentan FR elevados que deberían considerarse para realizar una rotación con un insecticida de compuesto bacteriano.

Recomendaciones

- Es necesario realizar más estudios sobre el uso de Vectobac® 37 WG y Natular® DT para lograr determinar su nivel de bioeficacia contra poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* de otras regiones del país con importancia entomológica y epidemiológica.
- En la lucha antivectorial realizada por el PNCA es muy importante hacer un uso adecuado del Vectobac® 37 WG y Natular® DT para evitar un rápido desarrollo de la resistencia a estos agentes de control biológico.
- Es muy importante que el PNCA desarrolle un programa de vigilancia y monitoreo de la resistencia de los insecticidas aplicados contra poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* con el propósito de prolongar su vida útil.
- Es necesario que el PNCA considere a los agentes Vectobac® 37 WG y Natular® DT como agentes alternativos al momento que se presente problemas de resistencia al agente químico temefos.

Referencia Bibliográfica:

- Achee, N. L., Grieco, J. P., Vatandoost, H., Seixas, G., Pinto, J., Ching-Ng, L., Martins, A. J., Juntarajumnong, W., Corbel, V., Gouagna, C., David, J. P., Logan, J. G., Orsborne, J., Marois, E., Devine, G. J., & Vontas, J. (2019). Alternative strategies for mosquito-borne arbovirus control. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *13*(1), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006822>
- Anderson, J., Ferrandino, F., Dingman, D., Main, A., Andreadis, T., & Becnel, J. (2011). Control of mosquitoes in catch basins in Connecticut with bacillus thuringiensis israelensis, Bacillus sphaericus, and spinosad. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *27*(1), 45–55. <https://doi.org/10.2987/10-6079.1>
- Aponte, A., Penilla, R. P., Rodríguez, A. D., & Ocampo, C. B. (2019). Mechanisms of pyrethroid resistance in *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* from Colombia. *Acta Tropica*, *191*, 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.021>
- Aponte, H. A., Penilla, R. P., Dzul-Manzanilla, F., Che-Mendoza, A., López, A. D., Solís, F., Manrique-Saide, P., Ranson, H., Lenhart, A., McCall, P. J., & Rodríguez, A. D. (2013). The pyrethroid resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* from the Guerrero state, Mexico. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *107*(2), 226–234. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.07.005>
- Araújo, A. P., Araujo Diniz, D. F., Helvecio, E., De Barros, R. A., De Oliveira, C. M. F., Ayres, C. F. J., De Melo-Santos, M. A. V., Regis, L. N., & Silva-Filha, M. H. N. L. (2013). The susceptibility of *Aedes aegypti* populations displaying temephos resistance to *Bacillus thuringiensis israelensis*: A basis for management. *Parasites and Vectors*, *6*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-297>
- Argueta, A., Valle, J., & Marina, C. (2011). Efectos ovicida y larvicida del spinosad en *Aedes aegypti* (diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*, *37*(2), 269–272.
- Arredondo, J., Méndez, A., & Medina, H. (2016). Arbovirus in Latin America. *Acta Pediátrica de México*, *37*(2), 111–131. <https://doi.org/10.18233/apm37no2pp111-131>
- Atencia, M. C., Pérez, M. de J., Jaramillo, M. C., Caldera, S. M., Cochero, S., & Bejarano, E. E. (2016). Primer reporte de la mutación F1534C, asociada con resistencia cruzada a DDT y piretroides, en *Aedes aegypti* de Colombia. *Biomédica*, *36*(3). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i3.2834>
- ATSDR. (2003). *Piretrinas y piretroides (Pyrethrins and Pyrethroids) English (US)* (Número September).
- Auteri, M., La Russa, F., Blanda, V., & Torina, A. (2018). Insecticide Resistance Associated with *kdr* Mutations in *Aedes albopictus*: An Update on Worldwide Evidences. *BioMed Research International*, 2018.

<https://doi.org/10.1155/2018/3098575>

- Baldacchino, F., Caputo, B., Chandre, F., Drago, A., della Torre, A., Montarsi, F., & Rizzoli, A. (2015). Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: A review. *Pest Management Science*, *71*(11), 1471–1485. <https://doi.org/10.1002/ps.4044>
- Bangs, M. J., & Focks, D. A. (2006). Abridged pupa identification key to the common container-breeding mosquitoes in urban Southeast Asia. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *22*(3), 565–572. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)22\[565:APIKTT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2006)22[565:APIKTT]2.0.CO;2)
- Benelli, G. (2015). Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. *Parasitology Research*, *114*(8), 2801–2805. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4586-9>
- Benelli, G., Jeffries, C. L., & Walker, T. (2016). Biological control of mosquito vectors: Past, present, and future. *Insects*, *7*(4), 1–18. <https://doi.org/10.3390/insects7040052>
- Bérdy, J. (2005). *Bioactive Microbial Metabolites A Personal View*. *58*(1), 1–26.
- Bharati, M., Rai, P., & Saha, D. (2019). Insecticide resistance in *Aedes albopictus* Skuse from sub-Himalayan districts of West Bengal, India. *Acta Tropica*, *192*(December 2018), 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.02.007>
- Bharati, M., & Saha, D. (2018). Multiple insecticide resistance mechanisms in primary dengue vector, *Aedes aegypti* (Linn.) from dengue endemic districts of sub-Himalayan West Bengal, India. *PLoS ONE*, *13*(9), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203207>
- Bisset, J. (2002). Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, *54*(3), 202–219.
- Bisset, J., Rodríguez, M., & Cáceres, L. (2003). Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. *Revista cubana de medicina tropical*, *55*(3), 191–195.
- Bisset, J., Rodríguez, M., San Martín, J., Romero, J., & Montoya, R. (2009). Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. *Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health*, *26*(3), 229–234. <https://doi.org/10.1590/s1020-49892009000900007>
- Bond, J. G., Marina, C. F., & Williams, T. (2004). The naturally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. *Medical and Veterinary Entomology*, *18*(1), 50–56. <https://doi.org/10.1111/j.0269-283X.2004.0480.x>
- Braks, M. A. H., Honório, N. A., Lounibos, L. P., Lourenço-de-Oliveira, R., & Juliano, S. A. (2004). Interspecific competition between two invasive species

- of container mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), in Brazil. *Annals of the Entomological Society of America*, 97(1), 130–139. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2004\)097\[0130:ICBTIS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2004)097[0130:ICBTIS]2.0.CO;2)
- Cáceres, L. (2013). *Determinación de la Resistencia a Insecticidas y sus Mecanismos en Poblaciones de Aedes aegypti (Díptera: Culicidae) en Algunos Países América Central*.
- Cáceres, L. (2017). *Resistencia SENACYT - 2017* (p. 18).
- Cáceres, L., Rovira, J., García, A., Torres, R., & De la Cruz, M. (2012). Determinación del estado de la susceptibilidad a insecticidas organofosforados, carbamato y piretroides en poblaciones de *Aedes aegypti* Linneaus, 1762 (Díptera: Culicidae) de Panamá. *Biomédica*, 33(0), 70–81. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.703>
- Cáceres, L., Rovira, J., García, A., Torres, R., & De la Cruz, M. (2013). Determinación del estado de la susceptibilidad a insecticidas organofosforados, carbamato y piretroides en poblaciones de *Aedes aegypti* Linneaus, 1762 (Díptera: Culicidae) de Panamá. *Biomédica*, 33(0). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.703>
- Calderón, Ó., & Troyo, A. (2016). Evaluation of insecticide resistance in strains of *aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from the Caribbean region of Costa Rica | Evaluación de la resistencia a insecticidas en cepas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de la Región Caribe de Costa Rica. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 68(1), 95–104.
- Carbajo, A. E. (2003). Distribución espacio-temporal de *Aedes aegypti* (Diptera :Culicidae) : su relación con el ambiente urbano y el riesgo de transmisión del virus dengue en la Ciudad de Buenos Aires. En *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires*. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3605_Carbajo.pdf
- Carod, E. (2002). Insecticidas organofosforados. “De la guerra química al riesgo laboral y doméstico”. *MEDIFAM - Revista de Medicina Familiar y Comunitaria*, 12(5), 333–340. <https://doi.org/10.4321/s1131-57682002000500005>
- Carrasco, Y. (2018). *Mortalidad generada por un preparado comercial de Bacillus thuringiensis H-14 var. Israelensis sobre larvas de Culex quinquefasciatus Say 1823 y Chironomus calligraphus Goeldi 1905. (Insecta Diptera), Ayacucho 2015.pdf*. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Carvalho, S., Crespo, M. M., Araújo, A. P., Santana, R., Melo-santos, M. A. V. De, Maria, C., Oliveira, F. De, Helena, M., & Lobo, N. (2018). Long-term exposure of *Aedes aegypti* to *Bacillus thuringiensis* svar . israelensis did not involve altered susceptibility to this microbial larvicide or to other control agents. *Parasites Vectors*, 11(673), 1–11.
- Castañet, C., & Moreno, S. (2016). *Bacillus thuringiensis*: Características y uso en el control de *Aedes aegypti*. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de*

Azúcar, 50(3), 37–42.

- Cenaprece. (2015). Guía para la instalación y mantenimiento del insectario de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). En *Secretaría de Salud Pública de México*. [http://www.esconorte.com.uy/pdf/Folleto Piscinas.pdf%0Ahttp://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vector es/descargas/pdf/GuiaInstalacionMantenimientoInsectarioAedesAegypti.pdf](http://www.esconorte.com.uy/pdf/FolletoPiscinas.pdf%0Ahttp://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vector es/descargas/pdf/GuiaInstalacionMantenimientoInsectarioAedesAegypti.pdf)
- Cerdán, W. B., Soto, J. R., Huamán, J. P., Alfaro, V., Fernández, W. M., Abanto, L. S., & Pita, A. (2011). *Producción de biomasa de Bacillus thuringiensis H-14 var . israelensis mutante en un medio fermentativo a base de sanguaza*. 31(2).
- César, J., Rosales, P., María, R., Quesada, C., & Pérez, M. G. (2011). Metamorfosis y emergencia de *Aedes aegypti* fuera del medio acuático y nuevo reporte de importancia entomológica y epidemiológica en Santiago de Cuba Metamorphosis and emergence of *Aedes aegypti* mosquitoes outside the aquatic environment and a new report o. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 49(2), 173–182.
- Chino, A., Sánchez, H., & Ortega, L. (2014). Insecticide Susceptibility of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) in Guerrero, Mexico. *Southwestern Entomologist*, 39(3), 601. <https://doi.org/10.3958/059.039.0319>
- Christophers, R. (1961). *Aedes Aegypti*: The Yellow Fever Mosquito. En *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* (Vol. 10, Número 1). <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1961.10.112>
- Consoli, R. A. G. B., & Oliveira, R. L. de. (1994). Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. En *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. <https://doi.org/10.7476/9788575412909>
- Dahmana, H., Raoult, D., Fenollar, F., & Mediannikov, O. (2020). Insecticidal activity of bacteria from larvae breeding site with natural larvae mortality: Screening of separated supernatant and pellet fractions. *Pathogens*, 9(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060486>
- Darriet, F., & Corbel, V. (2006). Laboratory evaluation of pyriproxyfen and spinosad, alone and in combination, against *Aedes aegypti* larvae. *Journal of Medical Entomology*, 43(6), 1190–1194. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2006\)43\[1190:LEOPAS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2006)43[1190:LEOPAS]2.0.CO;2)
- Darriet, F., Marcombe, S., Etienne, M., Yébakima, A., Agnew, P., Yp-Tcha, M. M., & Corbel, V. (2010). Field evaluation of pyriproxyfen and spinosad mixture for the control of insecticide resistant *Aedes aegypti* in Martinique (French West Indies). *Parasites and Vectors*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-88>
- David, J., Ismail, H. M., Chandor-proust, A., John, M., Paine, I., John, M., & Paine, I. (2013). *Role of cytochrome P450s in insecticide resistance: impact on the control of mosquito-borne diseases and use of insecticides on Earth*.

- de Fernícola, N. A. (1985). Toxicología de los insecticidas organoclorados. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 98(1), 10–19.
- De León, A. A. P., Mitchell, R. D., Miller, R. J., & Lohmeyer, K. H. (2021). Advances in Integrated Tick Management Research for Area-Wide Mitigation of Tick-Borne Disease Burden. En *Area-Wide Integrated Pest Management*. <https://doi.org/10.1201/9781003169239-15>
- Deamicis, C. V., Anzeveno, P. B., Martynow, J. G., McLaren, K. L., Green, F. R., Sparks, T. C., Kirst, H. A., Creemer, L. C., Worden, T. V., Schoonover, J. R., Gifford, J. M., Hatton, C. J., Hegde, V. B., Crouse, G. D., Thoreen, B. R., & Ricks, M. J. (1996). *Synthetic modification to spinosyn compounds*.
- Demain, A. L., & Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 Years of progress. *Journal of Antibiotics*, 62(1), 5–16. <https://doi.org/10.1038/ja.2008.16>
- Dhakal, D., Pokhrel, A. R., Jha, A. K., Thuan, N. H., & Sohng, J. K. (2017). Saccharopolyspora species: Laboratory maintenance and enhanced production of secondary metabolites. *Current Protocols in Microbiology*, 2017(October), 10H.1.1-10H.1.13. <https://doi.org/10.1002/cpmc.21>
- Dos Santos Dias, L., MacOris, M. D. L., Andrighetti, M., Otrera, V., Dias, A., Bauzer, L., Rodovalho, C., Martins, A., & Lima, J. (2017). Toxicity of spinosad to temephos-resistant *Aedes aegypti* populations in Brazil. *PLoS ONE*, 12(3), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173689>
- Dusfour, I., Vontas, J., David, J. P., Weetman, D., Fonseca, D. M., Corbel, V., Raghavendra, K., Coulibaly, M. B., Martins, A. J., Kasai, S., & Chandre, F. (2019). Management of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses: Advances and challenges. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(10), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007615>
- Dutary, B. E., Rozette, J. E., & Campos, C. (1989). Situación actual del mosquito *Aedes aegypti* en el área metropolitana de la ciudad de Panamá. *Revista medica de Panama*, 14(2), 67–78.
- Dyck, V. A., Hendrichs, J., & Robinson, A. S. (2021). Sterile Insect Technique. En *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. (2a ed.).
- ECDC. (2012). *Nuevo mapa de distribución de mosquitos exóticos y flebotomos en Europa | Higiene Ambiental*. [higieneambiental.com](https://higieneambiental.com/control-de-plagas/distribucion-mosquitos-exoticos-y-flebotomos-europa). <https://higieneambiental.com/control-de-plagas/distribucion-mosquitos-exoticos-y-flebotomos-europa>
- Eskildsen, G. A., Rovira, J. R., Smith, O., Miller, M. J., Bennett, K. L., McMillan, W. O., & Loaiza, J. (2018). Maternal invasion history of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* into the Isthmus of Panama: Implications for the control of emergent viral disease agents. *PLOS ONE*, 13(3), e0194874. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194874>
- Estrada, J., & Craig, G. (1995). *Biology, disease relationships and control of Aedes*

albopictus.

- Fantinatti, E. C. S., Duque, J. E. L., Silva, A. M., & Navarro-Silva, M. A. (2007). Abundância e agregação de ovos de *Aedes aegypti* L. e *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) no norte e noroeste do Paraná. *Neotropical Entomology*, 36(6), 960–965. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2007000600020>
- Fernández, O. (2002). Tecnologías de producción de *Bacillus thuringiensis*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*, 64(64), 100–115. <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2052e/A2052e.pdf>
- Futami, K., Iwashita, H., Higa, Y., Lutiali, P. A., Sonye, G. O., Mwatele, C., Njenga, S. M., & Minakawa, N. (2020). Geographical Distribution of *Aedes aegypti aegypti* and *Aedes aegypti formosus* (Diptera: Culicidae) in Kenya and Environmental Factors Related to Their Relative Abundance. *Journal of Medical Entomology*, 57(3), 772–779. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz233>
- Galavíz, J., Vega, F., Cupul, F., Navarrete, J., Ruiz, L., Vargas, M., & Chong, O. (2016). Chemical and biological control on *Aedes aegypti* larvae in the northern coastal region of Jalisco, Mexico. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 68(2), 111–124.
- Galindo, G., Contreras, C., Medina, H., Mejía, J., & Arreola, B. (2017). Vigilancia Epidemiológica y Análisis Espacial. En *Global Biodiversity Information Facility*.
- Galindo M., G., & Contreras, C. (2018). *Colección Salud Humana. Vigilancia sindrómica y alerta epidemiológica Geomedicina y la Tecnología espacial aplicada al caso de los vectores en la salud humana*. (Número October).
- Gan, S. J., Leong, Y. Q., bin Barhanuddin, M. F. H., Wong, S. T., Wong, S. F., Mak, J. W., & Ahmad, R. B. (2021). Dengue fever and insecticide resistance in *Aedes* mosquitoes in Southeast Asia: a review. *Parasites and Vectors*, 14(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04785-4>
- García, G. de A., David, M. R., Martins, A. de J., Maciel-de-Freitas, R., Linss, J. G. B., Araújo, S. C., Lima, J. B. P., & Valle, D. (2018). The impact of insecticide applications on the dynamics of resistance: The case of four *Aedes aegypti* populations from different Brazilian regions. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(2), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006227>
- Garza, A., Martínez, J., Rodríguez, V., & Quiroz, H. (2011). Effectiveness of spinosad and temephos for the control of mosquito larvae at a tire dump in Allende, Nuevo Leon, Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 27(4), 404–407. <https://doi.org/10.2987/11-6133.1>
- Goindin, D., Delannay, C., Gelasse, A., Ramdini, C., Gaude, T., Faucon, F., David, J. P., Gustave, J., Vega-Rua, A., & Fouque, F. (2017). Levels of insecticide resistance to deltamethrin, malathion, and temephos, and associated mechanisms in *Aedes aegypti* mosquitoes from the Guadeloupe and Saint Martin islands (French West Indies). *Infectious Diseases of Poverty*, 6(1), 1–

15. <https://doi.org/10.1186/s40249-017-0254-x>

- Goldman, I. F., Arnold, J., & Carlton, B. C. (1986). Selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* in field and laboratory populations of the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 47(3), 317–324. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(86\)90102-3](https://doi.org/10.1016/0022-2011(86)90102-3)
- Gorman, K., Young, J., Pineda, L., Márquez, R., Sosa, N., Bernal, D., Torres, R., Soto, Y., Lacroix, R., Naish, N., Kaiser, P., Tepedino, K., Phillips, G., Kosmann, C., & Cáceres, L. (2016). Short-term suppression of *Aedes aegypti* using genetic control does not facilitate *Aedes albopictus*. *Pest Management Science*, 72(3), 618–628. <https://doi.org/10.1002/ps.4151>
- Gorodner, J. O. (2016). Enfermedades Emergentes: La influencia del cambio climático en América. *Revista multidisciplinaria sobre enfermedades nuevas, emergentes, re-emergentes o de imparrco para la salud pública global*, 15(1), 36–44.
- Grigoraki, L., Lagnel, J., Kioulos, I., Kampouraki, A., Morou, E., Labbé, P., Weill, M., & Vontas, J. (2015). Transcriptome Profiling and Genetic Study Reveal Amplified Carboxylesterase Genes Implicated in Temephos Resistance, in the Asian Tiger Mosquito *Aedes albopictus*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(5), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003771>
- Gupta, R. C., Malik, J. K., & Milatovic, D. (2011). Organophosphate and Carbamate Pesticides. En *Reproductive and Developmental Toxicology*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382032-7.10037-2>
- Hamid, P. H., Prastowo, J., Widyasari, A., Taubert, A., & Hermosilla, C. (2017). Knockdown resistance (kdr) of the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* population in Denpasar, Bali, Indonesia. *Parasites and Vectors*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2215-4>
- Harburguer, L. V., Gonzalez, P. V., Zerba, E. N., Licastro, S., & Masuh, H. M. (2016). Control químico de poblaciones de mosquitos. En: Investigaciones sobre mosquitos de Argentina. En R. M. Berón, Corina M. | Campos, Raúl E. | Díaz Nieto, Leonardo | Schweigmann, Nicolás | Salomón, Oscar D. | Gleiser (Ed.), *Investigaciones sobre mosquitos de Argentina* (1a ed., Número July, p. 372).
- Harris, A. F., Rajatileka, S., & Ranson, H. (2010). Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Grand Cayman. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(2), 277–284. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0623>
- Hasmiwati, Rusjdi, S. R., & Nofita, E. (2018). Detection of ace-1 gene with insecticides resistance in *Aedes aegypti* populations from DHF-endemic areas in Padang, Indonesia. *Biodiversitas*, 19(1), 31–36. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190105>
- Hayes, T. B., & Hansen, M. (2017). From silent spring to silent night: Agrochemicals and the anthropocene. *Elementa*, 5.

<https://doi.org/10.1525/elementa.246>

- Hemingway, J., & Ranson, H. (2000). Insecticide Resistance in Insect Vectors of Human Disease. *Annual Review of Entomology*, *45*(1), 371–391. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.371>
- Hernández, A. (2020). Evaluation of the resistance to insecticides in *Aedes aegypti*, transmitter of dengue, in Latin America. *Mexican Journal of Medical Research ICOSA*, *8*(15), 23–28. <https://doi.org/10.29057/mjmr.v8i15.3912>
- ICGES. (2015). *Evaluación de la bioeficacia del agente larvicida Natular™ DT en Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) en condiciones de campo.*
- Id, M., Chonephetsarath, S., Thammavong, P., Phommavanh, N., David, J., Corbel, V., Sutherland, I. W., Hertz, J. C., & Brey, P. T. (2019). Distribution of insecticide resistance and mechanisms involved in the arbovirus vector *Aedes aegypti* in Laos and implication for vector control. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *13*(12), 1–22.
- Intan, I., Zairi, J., Hilary, R., & Charles, W. (2015). Contrasting patterns of insecticide resistance and knockdown resistance (kdr) in the dengue vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Malaysia. *Parasites and Vectors*, *8*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0797-2>
- Ishak, I. H., Jaal, Z., Ranson, H., & Wondji, C. S. (2015). Contrasting patterns of insecticide resistance and knockdown resistance (kdr) in the dengue vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Malaysia. *Parasites and Vectors*, *8*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-494>
- Jaric, D., Hackenberger, B. K., Stepčić, S., & Merdić, E. (2008). Influence of molting on efficacy of two functionally different larvicides: Bti and temephos. *Journal of Economic Entomology*, *101*(4), 1204–1210. [https://doi.org/10.1603/0022-0493\(2008\)101\[1204:IOMOEO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2008)101[1204:IOMOEO]2.0.CO;2)
- Jeffries, C. L., & Walker, T. (2015). The Potential Use of Wolbachia-Based Mosquito Biocontrol Strategies for Japanese Encephalitis. *PLoS neglected tropical diseases*, *9*(6), e0003576. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003576>
- Jha, A. K., Pokhrel, A. R., Chaudhary, A. K., Park, S. W., Cho, W. J., & Sohng, J. K. (2014). Metabolic engineering of rational screened *Saccharopolyspora spinosa* for the enhancement of spinosyns A and D production. *Molecules and Cells*, *37*(10), 727–733. <https://doi.org/10.14348/molcells.2014.0168>
- Jiang, Y., & Mulla, M. . (2009). Laboratory and field evaluation of spinosad, a biorational natural product, against larvae of culex mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *25*(4), 456–466. <https://doi.org/10.2987/Moco-09-5925.1>
- Juliano, S. A. (2009). Species interactions among larval mosquitoes: Context dependence across habitat gradients. *Annual Review of Entomology*, *54*, 37–

56. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.54.110807.090611>

- Kamgang, B., Marcombe, S., Chandre, F., Nchoutpouen, E., Nwane, P., Etang, J., Corbel, V., & Paupy, C. (2011). Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Central Africa. *Parasites and Vectors*, 4(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-79>
- Khan, H. A. A., Akram, W., Shehzad, K., & Shaalan, E. A. (2011). First report of field evolved resistance to agrochemicals in dengue mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), from Pakistan. *Parasites and Vectors*, 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-146>
- Kraemer, M. U. G., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A., Shearer, F. M., Brady, O. J., Messina, J. P., Barker, C. M., Moore, C. G., Carvalho, R. G., Coelho, G. E., Van Bortel, W., Hendrickx, G., Schaffner, F., Wint, G. R. W., Elyazar, I. R. F., Teng, H. J., & Hay, S. I. (2015). The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence. *Scientific Data*, 2, 1–8. <https://doi.org/10.1038/sdata.2015.35>
- Lacorte, S., Ehresmann, N., & Barceló, D. (1996). Persistence of temephos and its transformation products in rice crop field waters. *Environmental Science and Technology*, 30(3), 917–923. <https://doi.org/10.1021/es9503589>
- Lambrechts, L., Scott, T. W., & Gubler, D. J. (2010). Consequences of the expanding global distribution of *aedes albopictus* for dengue virus transmission. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000646>
- Laurence, D., Christophe, L., & Roger, F. (2011). Using the Bio-Insecticide *Bacillus Thuringiensis israelensis* in Mosquito Control. En *Pesticides in the Modern World - Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment* (p. 39). <https://doi.org/10.5772/17005>
- Leong, C. S., Vythilingam, I., Wong, M. L., Wan Sulaiman, W. Y., & Lau, Y. L. (2018). *Aedes aegypti*(Linnaeus) larvae from dengue outbreak areas in Selangor showing resistance to pyrethroids but susceptible to organophosphates. *Acta Tropica*, 185(May), 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.05.008>
- Li, Y., Xu, J., Zhong, D., Zhang, H., Yang, W., Zhou, G., Su, X., Wu, Y., Wu, K., Cai, S., Yan, G., & Chen, X. G. (2018). Evidence for multiple-insecticide resistance in urban *Aedes albopictus* populations in southern China. *Parasites and Vectors*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2581-y>
- Lima, E. P., Paiva, M. H. S., De Arújo, A. P., Da Silva, É. V. G., Da Silva, U. M., De Oliveira, L. N., Santana, A. E. G., Barbosa, C. N., De Paiva Neto, C. C., Goulart, M. O., Wilding, C. S., Ayres, C. F. J., & De Melo Santos, M. A. V. (2011). Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasites and Vectors*, 4(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-5>

- Londono, B., Troupin, A., & Colpitts, T. (2016). Arbovirosis and potential transmission blocking vaccines. *Parasites and Vectors*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1802-0>
- Lopes, J., Santos, F., Zequi, J., & Petroni, D. (2010). Eficiência e Persistência de Três Produtos Comerciais à Base de. *Publicação do Projeto Entomologistas do Brasil*, 3(3), 85–88.
- López, A. D., Castillo, A., Cisneros, J., Solís, F., Penilla, R. P., Black, W. C., Torres, J., & Rodríguez, A. D. (2020). Resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) de Tapachula, Chiapas, México. *Salud Publica de Mexico*, 62(4), 439–446. <https://doi.org/10.21149/10131>
- Lounibos, L. P. (2007). COMPETITIVE DISPLACEMENT AND REDUCTION. *J. of the American Mosquito Control Association*, 23(2), 276–282.
- Mains, J. W., Brelsfoard, C. L., Rose, R. I., & Dobson, S. L. (2016). Female adult aedes Albopictus suppression by Wolbachia-infected male mosquitoes. *Scientific Reports*, 6(September), 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep33846>
- Marcombe, S., Chonephetsarath, S., Thammavong, P., & Brey, P. T. (2018). Alternative insecticides for larval control of the dengue vector *Aedes aegypti* in Lao PDR: Insecticide resistance and semi-field trial study. *Parasites and Vectors*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3187-8>
- Marcombe, S., Farajollahi, A., Healy, S. P., Clark, G. G., & Fonseca, D. M. (2014). Insecticide resistance status of United States populations of *Aedes albopictus* and mechanisms involved. *PLoS ONE*, 9(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101992>
- Marcombe, S., Mathieu, R. B., Pocquet, N., Riaz, M. A., Poupardin, R., Sélior, S., Darriet, F., Reynaud, S., Yébakima, A., Corbel, V., David, J. P., & Chandre, F. (2012). Insecticide resistance in the dengue vector aedes aegypti from martinique: Distribution, mechanisms and relations with environmental factors. *PLoS ONE*, 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030989>
- Marcombe, S., Poupardin, R., Darriet, F., Reynaud, S., Bonnet, J., Strode, C., Brengues, C., Yébakima, A., Ranson, H., Corbel, V., & David, J. P. (2009). Exploring the molecular basis of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti*: A case study in Martinique Island (French West Indies). *BMC Genomics*, 10, 494. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-494>
- Maron, D. F. (2016). Cómo el Zika se salió de control - Scientific American. *Scientific American*, 16. <https://www.scientificamerican.com/article/how-zika-spiraled-out-of-control1/>
- Marques, L. (2018). *Espinosinas: mecanismo de acción y características*. Marques, Leandro. *Espinosinas: mecanismo de ação e características*. Disponível em: <<https://elevagro.com/materiais-didaticos/epinosinas-mecanismo-de-acao-e-caracteristicas/>>. Data de acesso: 19 de maio.

- Elevagro. <https://elevagro.com/materiais-didaticos/espinosinas-mecanismo-de-acao-e-caracteristicas/>
- Marquetti, M. del C., Bisset, J., Leyva, M., García, A., & Rodríguez, M. (2008). Comportamiento estacional y temporal de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en La Habana, Cuba. *Rev. cuba. med. trop*, 60(1), 0–0.
- Martinez de Cuellar, C. (2021). Dengue, una historia inacaba. *Pediatría (Asunción)*, 48(2), 92–94. <https://doi.org/10.31698/ped.48022021001>
- Mcallister, J. C., Godsey, M. S., & Scott, M. L. (2012). Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Port-au-Prince, Haiti. *Journal of Vector Ecology*, 37(2), 325–332. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2012.00234.x>
- McGregor, B. L., & Connelly, C. R. (2021). A Review of the Control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Continental United States. *Journal of medical entomology*, 58(1), 10–25. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa157.A>
- Mendez, J., Moreno, B., Suarez, J. A., Vergues, C., Dutary, D., Estripeaut, D., González, J., de Villarreal, G., Valderrama, A., Cáceres, L., & Sosa, N. (2016). Zika en Panamá y Latinoamérica : Aspectos clínicos y moleculares de una Revista Médica de Panamá - Digitalizado por Infomedic International - Index www.revistasmedicas.org - Derechos reservados . Artículo de revisión. *Academia Panameña de Medicina y Cirugía*, 35(August), 10.
- Mertz, F. P., & Yao, R. C. (2018). *Saccharopolyspora spinosa* sp . nov . Isolated from Soil Collected in a Sugar Mill Rum Still. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 2, 34–39.
- Mesa, A., Alvarado, G., Licona, N., Ramos, R., & Aguilar, M. (2013). Residualidad del temefos en depósitos domésticos y su efectividad en el control de larvas de. *Medisan*, 17(6), 934–943.
- Miller, M. J., & Loaiza, J. R. (2015). Geographic Expansion of the Invasive Mosquito *Aedes albopictus* across Panama—Implications for Control of Dengue and Chikungunya Viruses. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(1), e0003383. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003383>
- Ministerio de Salud Publica. (2011). *Manual De Vigilancia Y Control De Aedes Aegypti*. www.msp.gub.uy
- MINSA. (1985). *Re-infestacion de Ae, aegypti Panamá 1985.pdf*.
- MINSA. (2021a). *DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA BOLETÍN EPIDEMIOLOGICO SEMANAL Año : 2021 Semana N ° 42 (Vol. 42)*.
- MINSA. (2021b). *Región Casos*.
- Molina, M. (2020). *Evaluación de la bioeficacia de tres agentes larvicidas en estadios larvales de Aedes aegypti y Aedes albopictus en dos localidades de Azuero*. Universidad de Panamá.

- Moreira, L. A., Iturbe-Ormaetxe, I., Jeffery, J. A., Lu, G., Pyke, A. T., Hedges, L. M., Rocha, B. C., Hall-Mendelin, S., Day, A., Riegler, M., Hugo, L. E., Johnson, K. N., Kay, B. H., McGraw, E. A., van den Hurk, A. F., Ryan, P. A., & O'Neill, S. L. (2009). A *Wolbachia* Symbiont in *Aedes aegypti* Limits Infection with Dengue, Chikungunya, and Plasmodium. *Cell*, *139*(7), 1268–1278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.042>
- Moyes, C. L., Vontas, J., Martins, A. J., Ng, L. C., Koou, S. Y., Dusfour, I., Raghavendra, K., Pinto, J., Corbel, V., David, J. P., & Weetman, D. (2017). Correction to: Contemporary status of insecticide resistance in the major aedes vectors of arboviruses infecting humans (PLoS Negl Trop Dis). *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *15*(1), 1–2. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009084>
- Naqqash, M. N., Gökçe, A., Bakhsh, A., & Salim, M. (2016). Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests. *Parasitology Research*, *115*(4), 1363–1373. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4898-9>
- NCVBDC. (2022). *Situación del Dengue /FHD en la India*. Centro Nacional para el Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores. <https://nvbdcp.gov.in/index4.php?lang=1&level=0&linkid=431&lid=3715>
- Ngoagouni, C., Kamgang, B., Brengues, C., Yahouedo, G., Paupy, C., Nakouné, E., Kazanji, M., & Chandre, F. (2016a). Susceptibility profile and metabolic mechanisms involved in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* resistant to DDT and deltamethrin in the Central African Republic. *Parasites and Vectors*, *9*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1887-5>
- Ngoagouni, C., Kamgang, B., Brengues, C., Yahouedo, G., Paupy, C., Nakouné, E., Kazanji, M., & Chandre, F. (2016b). Susceptibility profile and metabolic mechanisms involved in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* resistant to DDT and deltamethrin in the Central African Republic. *Parasites and Vectors*, *9*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1887-5>
- O'Connor, L., Plichart, C., Sang, A. C., Brelsfoard, C. L., Bossin, H. C., & Dobson, S. L. (2012). Open Release of Male Mosquitoes Infected with a *Wolbachia* Biopesticide: Field Performance and Infection Containment. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *6*(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001797>
- OMS. (1983). *Control integrado de vectores: séptimo informe del Comité de Expertos de la OMS en Biología y Control de Vectores*. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_688.pdf
- OMS. (2017a). *OMS | Control biológico*. https://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/biological_control/es/
- OMS. (2017b). *Procedimientos de las pruebas para la vigilancia de la resistencia a los insecticidas en los mosquitos vectores del paludismo*.
- OPS/OMS. (2021a). *Chikungunya*. OPS/OMS. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>

- OPS/OMS. (2021b). *Chikungunya - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud*. OPS/OMS. <https://www.paho.org/es/temas/chikungunya>
- OPS. (2019a). Documento operativo de aplicación del manejo integrado de vectores adaptado al contexto de las Américas. En *Documento operativo de aplicación del manejo integrado de vectores adaptado al contexto de las Américas*. <https://doi.org/10.37774/9789275320983>
- OPS. (2019b). *Evaluación de las estrategias innovadoras para el control de Aedes aegypti: desafíos para su introducción y evaluación del impacto* (Organización Panamericana de la Salud (ed.)). <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/51376>
- OPS. (2019c). *Evaluación de las estrategias innovadoras para el control de Aedes aegypti: desafíos para su introducción y evaluación del impacto*.
- OPS. (2019d). *Manejo integrado de vectores (Integrated Vector Management / IVM)*. OPS. https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2640:malaria-vector-control-integrated-vector-management-ivm&Itemid=1912&lang=es
- OPS. (2021a). *Actualización Epidemiológica*.
- OPS. (2021b). *Actualización Epidemiológica Resumen de la situación Dengue*.
- OPS. (2021c). *PAHO/WHO Data - Casos de dengue*. <https://www3.paho.org/data/index.php/es/temas/indicadores-dengue/dengue-nacional/9-dengue-pais-ano.html>
- OPS. (2022). *Dengue - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud*. OPS/OMS. <https://www.paho.org/es/temas/dengue>
- OPS, & INS. (2005). *Guía de Vigilancia Entomológica y Control de Dengue* (Vol. 21).
- Ordoñez, R., Mastachi, C. A., Díaz, C., Cuervo, A. P., Ortiz, C., Gómez, M. A., & Medina, I. (2020). Spatial Risk Distribution of Dengue Based on the Ecological Niche Model of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Central Mexican Highlands. *Journal of Medical Entomology*, 57(3), 728–737. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz244>
- Orias, M. (2020). Intoxicación por organofosforados. *Revista Médica de Sinergia*, 5(8).
- Orlando, C., Porraspita, C., Rizo, I. A. G., Díaz, Z. M., Ariamys, I. I., Ibañez, C., & Rosa, I. I. T. (2012). Influencia de factores bióticos sobre la eficacia de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Influence of biotic factors on the efficacy of *Bacillus*. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 64(3), 235–243.
- Ortegon, L., & Carvajal, D. (2009). Efectividad del *Bacillus thuringiensis israelensis*

- como control biológico para larvas de *Aedes aegypti* en Florencia (Caquetá, Colombia). *Momentos de Ciencia*, 6(2), 100–104.
<http://www.udla.edu.co/revistas/index.php/momentos-de-ciencia/article/viewFile/183/100-104>
- Parra Henao, G. (2010). Sistemas de información geográfica y sensores remotos. Aplicaciones en enfermedades transmitidas por vectores. *Revista CES Medicina*, 24(2), 6.
- Pérez, C., Marina, C., Bond, J., Rojas, J., Valle, J., & Williams, T. (2007). Spinosad, a naturally derived insecticide, for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): Efficacy, persistence, and elicited oviposition response. *Journal of Medical Entomology*, 44(4), 631–638. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2007\)44\[631:SANDIF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[631:SANDIF]2.0.CO;2)
- Pérez, E., & Molina, D. (2009). Resistencia focal a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Díptera: Culicidae) de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 1(49), 143–150. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482009000100011
- Pérez, O., Rodríguez, J., Bisset, J., Leyva, M., Díaz, M., Fuentes, O., Ramos, F., González, R., & García, I. (2004). Manual de Indicaciones Técnicas para Insectarios. En *Ciudad de La Habana, Editorial Ciencias Médicas*.
- Perich, M. J., Davila, G., Turner, A., Garcia, A., & Nelson, M. (2000). Behavior of resting *Aedes aegypti* (Culicidae: Diptera) and its relation to ultra-low volume adulticide efficacy in Panama City, Panama. *Journal of Medical Entomology*, 37(4), 541–546. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-37.4.541>
- Petersen, L. R., & Powers, A. M. (2016). Chikungunya: Epidemiology. *F1000Research*, 5, 1–8. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7171.1>
- Ponce, G., Flores, A. E., Badii, M. H., & Fernández, I. (2004). Bionomía de *Aedes albopictus* (Skuse). *Revista Salud Pública y Nutrición*, 5(2).
- Ponce, J., Erazo, B., Yanes, N., Maradiaga, A., Bustillo, A., Cruz, A., Varela, D., Durón, D., Williams, A., Antúnez, K., Maradiaga, P., Matute, S., & Sandoval, S. (2018). Susceptibilidad de la larva de *aedes aegypti* a *bacillus thuringiensis* var *israelensis* en Tegucigalpa, Honduras. *Rev. méd. hondur*, 86, 7–10.
- Poupardin, R., Srisukontarat, W., Yunta, C., & Ranson, H. (2014). Identification of Carboxylesterase Genes Implicated in Temephos Resistance in the Dengue Vector *Aedes aegypti*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002743>
- Pruszyński, C. A., Hribar, L. J., Mickle, R., & Leal, A. L. (2017). A large scale biorational approach using *Bacillus thuringiensis israeliensis* (Strain AM65-52) for managing *Aedes aegypti* populations to prevent Dengue, Chikungunya and Zika transmission. *PLoS ONE*, 12(2), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170079>

- Qiu, X., Liu, N., Yang, C., & Zhou, X. (2020). *Aedes aegypti* carrying triple knockdown resistance mutations in Beijing, China. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(2), 170. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30748-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30748-0)
- Rahim, J., Ahmad, A. H., & Maimusa, A. H. (2017). Effects of temephos resistance on life history traits of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae), a vector of arboviruses. *Revista Brasileira de Entomologia*, 61(4), 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.08.001>
- Ramírez-Lepe, M., & Ramírez-Suero, M. (2012). Biological Control of Mosquito Larvae by *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Insecticides - Pest Engineering*. <https://doi.org/10.5772/29139>
- Ranson, H., Burhani, J., Lumjuan, N., & Iv, W. C. B. (2008). *Review Insecticide resistance in dengue vectors*. Tropika.net.
- Ranson, H., & Lissenden, N. (2016). Insecticide Resistance in African Anopheles Mosquitoes: A Worsening Situation that Needs Urgent Action to Maintain Malaria Control. *Trends in Parasitology*, 32(3), 187–196. <https://doi.org/10.1016/J.PT.2015.11.010>
- Rey, J. R., & Lounibos, P. (2015). Ecología de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en América y transmisión enfermedades. *Biomedica*, 35(2), 177–185. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i2.2514>
- Rizo, A. G., Ibañez, A. C., Díaz, Z. M., Martínez, J. A., García, I. G., Borjas, C. M. L., Castañet, C. E., & Armas, R. G. (2019). Evaluation of the larvicidal efficacy of rapidall NP3 (*Bacillus thuringiensis*) against *aedes aegypti* (linnaeus) (diptera: Culicidae) in laboratory conditions. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 71(1), 1–8.
- Robles, V. P. (2020). Virus transmitidos por mosquitos. *Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, 71(1).
- Rocha, H. D. R., Paiva, M. H. S., Silva, N. M., de Araújo, A. P., de Azevedo Camacho, D. dos R. da R., da Moura, A. J. F., Gómez, L. F., Ayres, C. F. J., & de Melo Santos, M. A. V. (2015). Susceptibility profile of *Aedes aegypti* from Santiago Island, Cabo Verde, to insecticides. *Acta Tropica*, 152, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.08.013>
- Rodríguez Cruz, R. (2010). Estrategias para el control del dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54(3), 189–201. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0375-07602002000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es%5Cnhttp://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602002000300004&script=sci_arttext
- Rodríguez, M., Bisset, J. A., Hurtado, D., Leyva, M., Castex, M., Hernández, H., & Augusto, L. (2016). Estado de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) del municipio Pinar del Río Situation of resistance to insecticides in *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) from Pinar del Río municipality. *Revista cubana de medicina tropical*, 68(2), 125–135.

- Rodríguez, M., Bisset, J. A., Hurtado, D., Montada, D., Leyva, M., Castex, M., Hernández, H., O'Farril, L. A., & Fuentes, I. (2016). Situation of resistance to insecticides in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Pinar del Rio municipality. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 68(2), 125–135.
- Rodríguez, M. H. (2020). *Producción de peces Poecilia maylandi y su implementación para el control biológico de Aedes spp.* (Número July).
- Rodríguez, M. M. (2008). *Estudio de la resistencia a insecticidas en Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)*.
- Rodríguez, M., Ruiz, A., Piedra, L., Gutierrez, G., Rey, J., Cruz, M., & Bisset, J. A. (2020). Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Boyeros municipality, Cuba and associated mechanisms. *Acta Tropica*, 212(August), 105680. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105680>
- Romi, R., Proietti, S., Di Luca, M., & Cristofaro, M. (2006). Laboratory evaluation of the bioinsecticide spinosad for mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(1), 93–96. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)22\[93:LEOTBS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2006)22[93:LEOTBS]2.0.CO;2)
- Ronald, M., & Doris, G. (2013). Revista Ciencias Biomédicas Artículos De Revisión Dengue : Epidemiología , Políticas Públicas Y Resistencia De Vectores a Insecticidas Dengue : Epidemiology , Public Policies and Resistance of the Vectors To Insecticides. *Rev.cienc.biomed.* 2013;4(2): 302-317, 4, 302–317.
- Rozendaal, J. A. (1997). Vector Control. Methods for use by individuals and communities. En *WHO*.
- Ryan, S. J., Carlson, C. J., Mordecai, E. A., & Johnson, L. R. (2018). Global expansion and redistribution of Aedes-borne virus transmission risk with climate change. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(3), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007213>
- Sadanandane, C., Boopathi Doss, P. S., Jambulingam, P., & Zaim, M. (2009). Efficacy of two formulations of the bioinsecticide spinosad against culex quinquefasciatus in India. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25(1), 66–73. <https://doi.org/10.2987/08-5807.1>
- Saeung, M., Ngoen-Klan, R., Thanispong, K., Muenworn, V., Bangs, M. J., & Chareonviriyaphap, T. (2020). Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) to temephos in Thailand and surrounding countries. *Journal of Medical Entomology*, 57(4), 1207–1220. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa035>
- Santos, V., Silva, C., Oliveira, C., de Moraes, C., Limongi, J., & Pereira, B. (2019). Evaluation of toxicity and environmental safety in use of spinosad to rationalize control strategies against *Aedes aegypti*. *Chemosphere*, 226, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.129>
- Serpa, L. L. N., Kakitani, I., & Voltolini, J. C. (2008). Competition between *Aedes*

- aegypti and *Aedes albopictus* larvae in the laboratory. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41(5), 479–484.
<https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000500009>
- Silva, A. S. da, Lobo, K. dos S., Silva, J. S. da, Vale, C. F. da S., Tadei, W. P., & Pinheiro, V. C. S. (2014). Influência dos fatores abióticos na efetividade de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis (Berliner, 1911) para larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 66(2), 174–190.
- Silva, M., Romão, T., Rezende, T., Carvalho, K. da S., de Menezes, H., Do Nascimento, N. A., Soberón, M., & Bravo, A. (2021). Bacterial toxins active against mosquitoes: Mode of action and resistance. *Toxins*, 13(8).
<https://doi.org/10.3390/toxins13080523>
- Smith, L. B., Kasai, S., & Scott, J. G. (2016). Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 133, 1–12.
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.03.005>
- Su, T. (2016). Resistance and Its Management to Microbial and Insect Growth Regulator Larvicides in Mosquitoes. En *Insecticides Resistance* (pp. 136–154). <https://doi.org/10.5772/61658>
- Suter, T., Crespo, M. M., De Oliveira, M. F., De Oliveira, T. S. A., De Melo-Santos, M. A. V., De Oliveira, C. M. F., Ayres, C. F. J., Barbosa, R. M. R., Araújo, A. P., Regis, L. N., Flacio, E., Engeler, L., Müller, P., & Silva-Filha, M. H. N. L. (2017). Insecticide susceptibility of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* from Brazil and the Swiss-Italian border region. *Parasites and Vectors*, 10(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s13071-017-2364-5>
- Thavara, U., Tawatsin, A., Asavadachanukorn, P., & Mulla, M. (2009). Field evaluation in Thailand of spinosad, A larvicide derived from *Saccharopolyspora Spinosa* (Actinomycetales) against *Aedes aegypti* (L.) larvae. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 40(2), 235–242.
- Thongwat, D., & Bunchu, N. (2015). Susceptibility to temephos, permethrin and deltamethrin of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Muang district, Phitsanulok Province, Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(1), 14–18. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60180-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60180-2)
- Toledo, A. (2005). Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. En *Golfo de México. Contaminación e Impacto ambiental: Diagnóstico y Tendencias* (Número July).
<https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3616.4962>
- Torné, M., Abad, R., & Jacquet, V. (2015). *Spinosines®*, una herramienta imprescindible para el control de *Drosophila suzukii* Matsumara. 26–28.
- Tuñon, A. (2019). DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS Y

SUS MECANISMOS BIOQUÍMICOS EN POBLACIONES DE Aedes aegypti Y Aedes albopictus PROCEDENTES DEL DISTRITO DE PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ.

- UNICEF. (2016). Control del vector *Aedes aegypti* y medidas preventivas en el contexto del zika. En *Nota Técnica para el Control del Vector Aedes aegypti* (Vol. 0, Número 0). https://www.unicef.org/lac/sites/unicef.org.lac/files/2018-04/20161220_UNICEF_Control_Vector_Preencion_Zika_Esp_UNICEF.pdf
- Uribe, C., & Chiquete, N. (2017). Las enfermedades transmitidas por vectores y el potencial uso de *Wolbachia*, una bacteria endocelular obligada, para erradicarlas. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 60(6), 51–55.
- USAID. (2014). SPINOSAD PARA EL CONTROL DEL MOSQUITO AEDES AEGYPTI EN HONDURAS. En *United States Agency for International Development/PMI*.
- Viana, P., Bellinato, D., Martins, A., & Valle, D. (2017). Insecticide resistance, associated mechanisms and fitness aspects in two Brazilian *Stegomyia aegypti* (= *Aedes aegypti*) populations. *Medical and Veterinary Entomology*, 31(4), 340–350. <https://doi.org/10.1111/mve.12241>
- Villarreal, M., Villa, E., Cira, L., Estrada, M., Parra, F., & De los Santos, S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1), 95–130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Vontas, J., Kioulos, E., Pavlidi, N., Morou, E., della Torre, A., & Ranson, H. (2012). Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104(2), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.05.008>
- Weetman, D., Kamgang, B., Badolo, A., Moyes, C. L., Shearer, F. M., Coulibaly, M., Pinto, J., Lambrechts, L., & McCall, P. J. (2018). *Aedes* mosquitoes and *Aedes*-borne arboviruses in Africa: Current and future threats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(2), 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijerph15020220>
- Whiteman, A., Gomez, C., Rovira, J., Chen, G., McMillan, W. O., & Loaiza, J. (2019). *Aedes* Mosquito Infestation in Socioeconomically Contrasting Neighborhoods of Panama City. *EcoHealth*, 16(2), 210–221. <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01417-3>
- WHO. (1957). *Expert Committee on Insecticide Seventh Report*. http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40380/WHO_TRS_125.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- WHO. (2005). *Guidelines for Laboratory and Field Testing of mosquito larvicides*.
- WHO. (2012). *Handbook for Integrated Vector Management (IVM)* (A. Drexler (ed.)). junio de 2012.

https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44768/9789241502801_eng.pdf?sequence=1

- WHO. (2021). *Dengue Situation Update Number 450 Update on the dengue situation in the Western Pacific Region Northern Hemisphere* (Número 450).
- WHO. (2022). *Update on the dengue situation in the Western Pacific Region* (Número 453).
- Wirth, M. C. (2014). Mosquito Resistance to Bacterial Larvicidal Toxins Mosquito Resistance to Bacterial Larvicidal Toxins. *The Open Toxinology Journal, January 2010*. <https://doi.org/10.2174/1875414701003010126>
- Y, G., MT, P., M, P., JR, C., & García, R. (2018). Enfermedades emergentes y reemergentes de origen viral transmitidas por el género Aedes. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab, 65*(1), 22–33. www.medigraphic.com/patologiaclinica
- Yadav, K., Rabha, B., Dhiman, S., & Veer, V. (2015). Multi-insecticide susceptibility evaluation of dengue vectors *Stegomyia albopicta* and *St. aegypti* in Assam, India. *Parasites and Vectors, 8*(1), 2–9. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0754-0>
- Yakob, L., & Walker, T. (2016). Zika virus outbreak in the Americas: The need for novel mosquito control methods. *The Lancet Global Health, 4*(3), e148–e149. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)00048-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)00048-6)
- Yang, F., Schildhauer, S., Billeter, S. A., Yoshimizu, M. H., Payne, R., Pakingan, M. J., Metzger, M. E., Liebman, K. A., Hu, R., Kramer, V., & Padgett, K. A. (2020). Vector Control , Pest Management , Resistance , Repellents Insecticide Resistance Status of *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) in California by Biochemical Assays. *Journal of Medical Entomology, 57*(March), 1176–1183. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa031>
- Yang, X., Zhou, Y., Sun, Y., Liu, J., & Jiang, D. (2021). Multiple insecticide resistance and associated mechanisms to volatile pyrethroid in an *Aedes albopictus* population collected in southern China. *Pesticide Biochemistry and Physiology, 174*(February), 104823. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104823>

Anexos

Cuadro 1: Concentraciones de Vectobac® 37 WG, Natular® DT y temefos con respecto a la cepa susceptible de referencia *Ae. aegypti* Rockefeller

	Concentración (mg/l)	MEAN	SEM
Vectobac 37® WG	0.07	99.75	0.25
	0.06	97.75	1.93
	0.05	92.75	3.75
	0.04	65	6.01
	0.03	51.25	5.39
	0.02	21.75	5.36
	0.01	3	1.08
	Natular® DT	0.05	100
0.025		98.67	0.67
0.013		91.67	1.67
0.006		44	2.31
0.003		11	0.58
0.002		6	1.53
Temefos	0.05	98.75	1.25
	0.025	95.75	4.25
	0.013	91.75	6.26
	0.006	50.75	6.63
	0.003	15	5.57
	0.001	0.25	0.25

Cuadro 2: Nivel de bioeficacia detectada con los insecticidas Vectobac® 37 WG, Natular® DT y temefos con las cepas de *Ae. aegypti*.

Cepa	Insecticida	Parámetros evaluados			
		CL50	FR50	CL90	FR90
<i>Ae. aegypti</i> Rock	Vectobac® WG	0.029 (0.024-0.033)	–	0.051 (0.044-0.066)	–
	Natular® DT	0.007 (0.006-0.008)	–	0.018 (0.015-0.023)	–
	temefos	0.006 (0.004-0.007)	–	0.015 (0.011-0.024)	–
<i>Ae. aegypti</i> CO	Vectobac® WG	0.030 (0.026-0.034)	1.03	0.059 (0.051-0.074)	1.15
	Natular® DT	0.015 (0.015-0.016)	2.14	0.043 (0.039-0.047)	2.38
	temefos	0.013 (0.012-0.015)	2.17	0.027 (0.023-0.033)	1.8
<i>Ae. aegypti</i> RA	Vectobac® WG	0.029 (0.026-0.031)	1	0.056 (0.050-0.064)	1.09
	Natular® DT	0.014 (0.011-0.018)	2	0.044 (0.032-0.073)	2.44
	temefos	0.029 (0.020-0.046)	4.83	0.059 (0.039-0.234)	3.93
<i>Ae. aegypti</i> VC	Vectobac® WG	0.022 (0.019-0.025)	0.75	0.041 (0.035-0.051)	0.8
	Natular® DT	0.018 (0.014-0.023)	2.57	0.040 (0.029-0.069)	2.22
	temefos	0.016 (0.011-0.023)	2.67	0.049 (0.032-0.120)	3.26

Cuadro 3: Nivel de bioeficacia detectada con los insecticidas Vectobac® 37 WG, Natular® DT y temefos con las cepas de *Ae. albopictus*

Cepa	Insecticida	Parámetros evaluados			
		CL50	FR50	CL90	FR90
<i>Ae. aegypti</i> Rock	Vectobac® WG	0.029 (0.024-0.033)	–	0.051 (0.044-0.066)	–
	Natular® DT	0.007 (0.006-0.008)	–	0.018 (0.015-0.023)	–
	temefos	0.006 (0.004-0.007)	–	0.015 (0.011-0.024)	–
<i>Ae. albopictus</i> CO	Vectobac® WG	0.031 (0.027-0.035)	1.07	0.066 (0.056-0.084)	1.29
	Natular® DT	0.011 (0.009-0.015)	1.57	0.025 (0.018-0.041)	1.38
	temefos	0.007 (0.005-0.011)	1.17	0.015 (0.010-0.040)	1
<i>Ae. albopictus</i> RA	Vectobac® WG	0.039 (0.030-0.048)	1.34	0.067 (0.053-0.119)	1.31
	Natular® DT	0.011 (0.009-0.014)	1.57	0.027 (0.020-0.042)	1.5
	temefos	0.006 (0.005-0.008)	1	0.013 (0.010-0.018)	0.86
<i>Ae. albopictus</i> VC	Vectobac® WG	0.037 (0.033-0.041)	1.28	0.071 (0.061-0.088)	1.39
	Natular® DT	0.016 (0.015-0.017)	2.29	0.031 (0.029-0.033)	1.72
	temefos	0.024 (0.022-0.027)	4	0.046 (0.040-0.056)	3.06

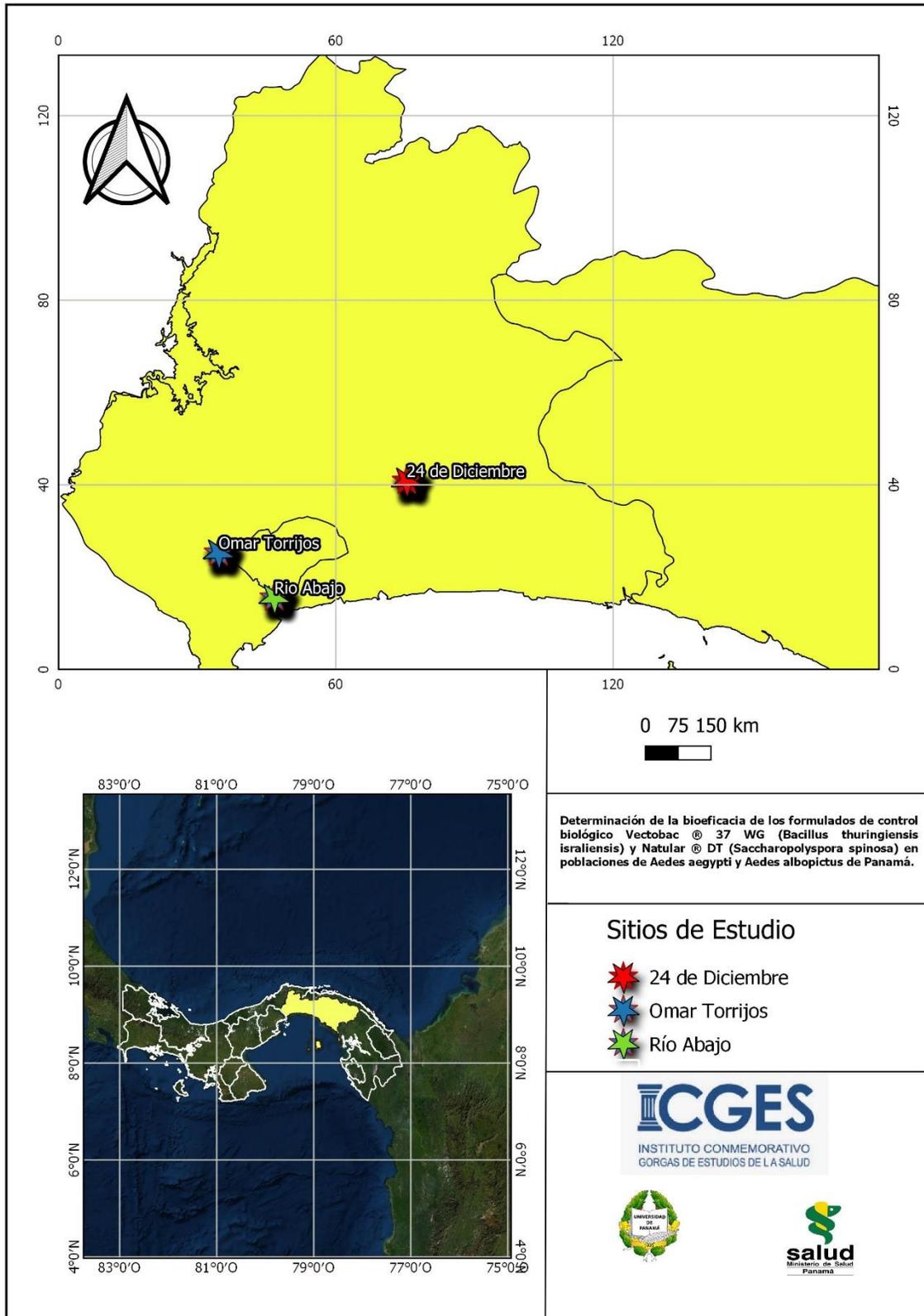


Figura 1: Localización del área de estudio en la Provincia de Panamá

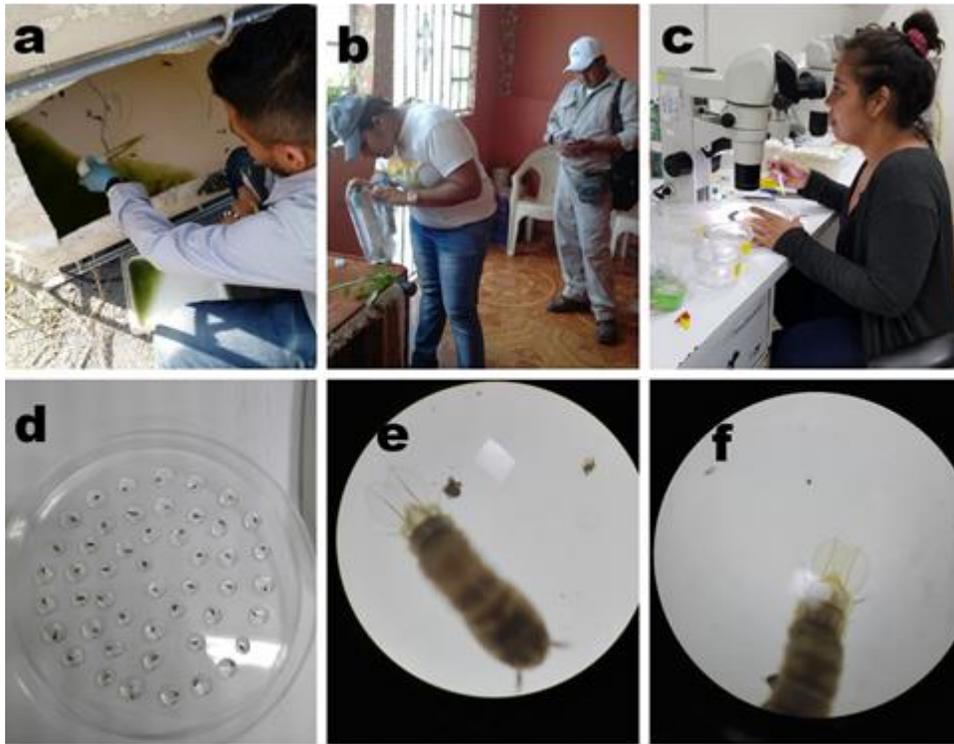


Figura 2: a-b) Colecta de material biológico, c-f) identificación de especímenes. Sitios de colecta peri-domiciliario en tres localidades.

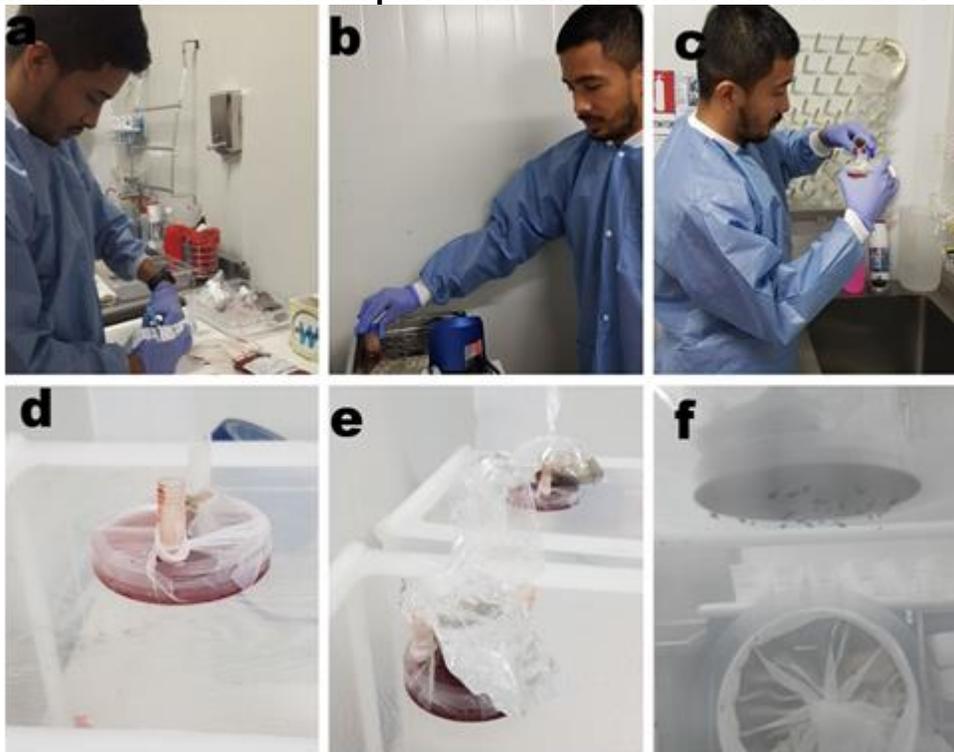


Figura 3: a-f) Alimentación artificial para los mosquitos adultos con sangre de equino; lugar de colecta Hipódromo presidente Remón.



Figura 4: a-c) Pesaje de insecticida químico (temefos), preparación y homogenizado; d-f) Pesaje de los insecticidas biológicos y preparación de (Vectobac® 37 WG y Natular® DT). Realizado en el Instituto Conmemorativo Gorgas de estudios de la salud (ICGES).

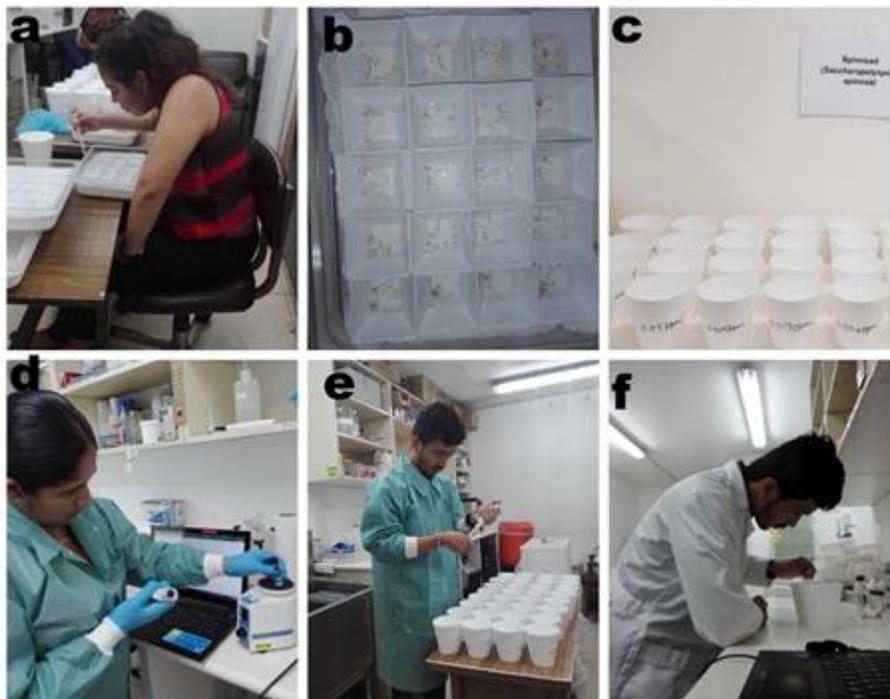


Figura 5: a) Clasificación de larvas de tercer estadio tardío o cuarto temprano; b) Larvas en sus pocillos; c) Larvas en vasos de 24oz con agua; d-e) aplicación de insecticidas a los vasos; f) conteo de las larvas después de las 24 horas. Realizado en el laboratorio.

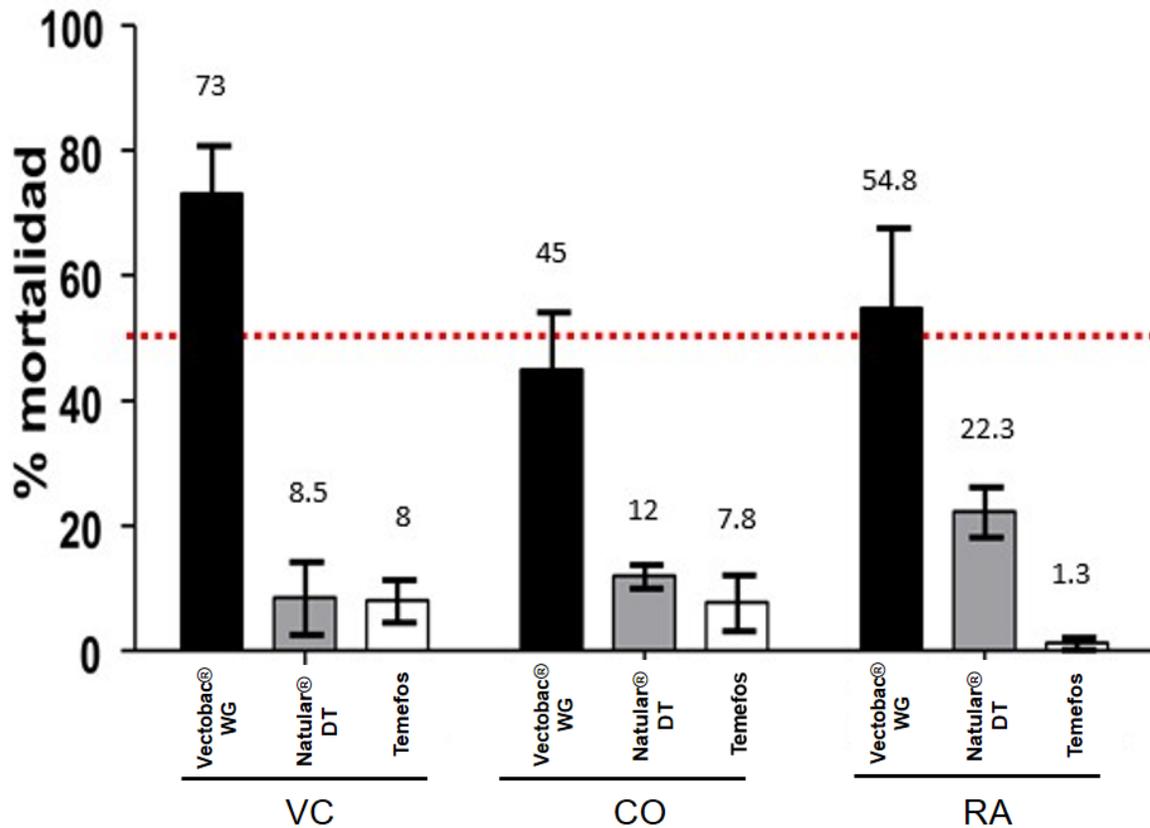


Figura 6: Comparación del porcentaje mortalidad a la CL₅₀ de *Ae. aegypti* por insecticida analizado con respecto a las tres localidades.

Las barras muestran la media de mortalidad \pm desviación estándar. Se aplicó una prueba de Kruskal Wallis para comparar los datos.

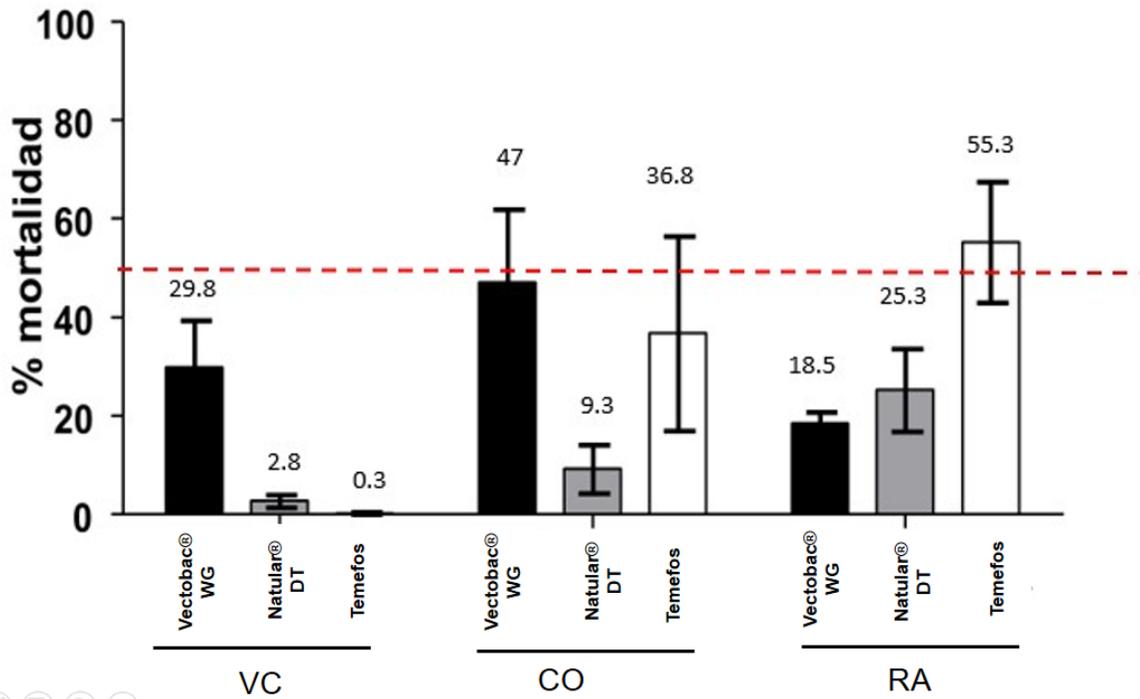


Figura 7: Comparación de mortalidad a la CL₅₀ de *Ae. albopictus* por insecticida analizado con respecto a las tres localidades.

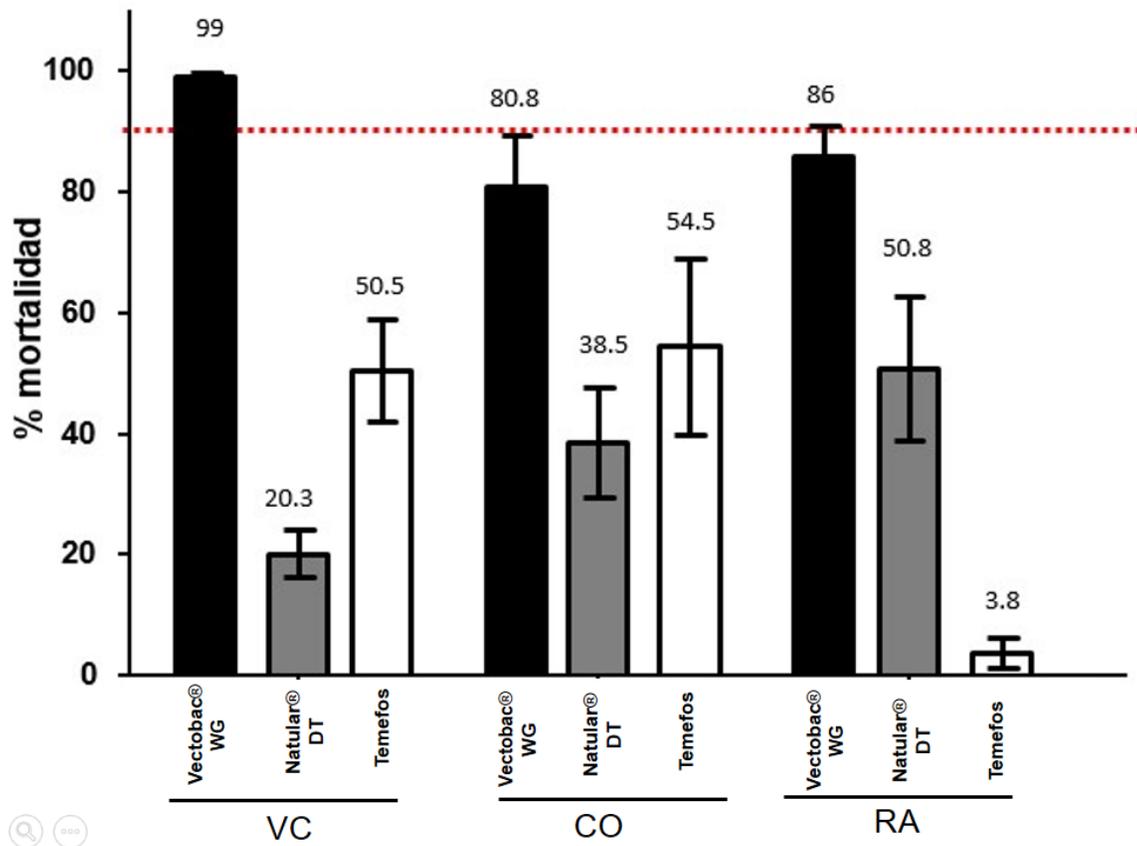


Figura 8: Comparación de mortalidad a la CL₉₀ de *Ae. aegypti* por insecticida analizado con respecto a las tres localidades.

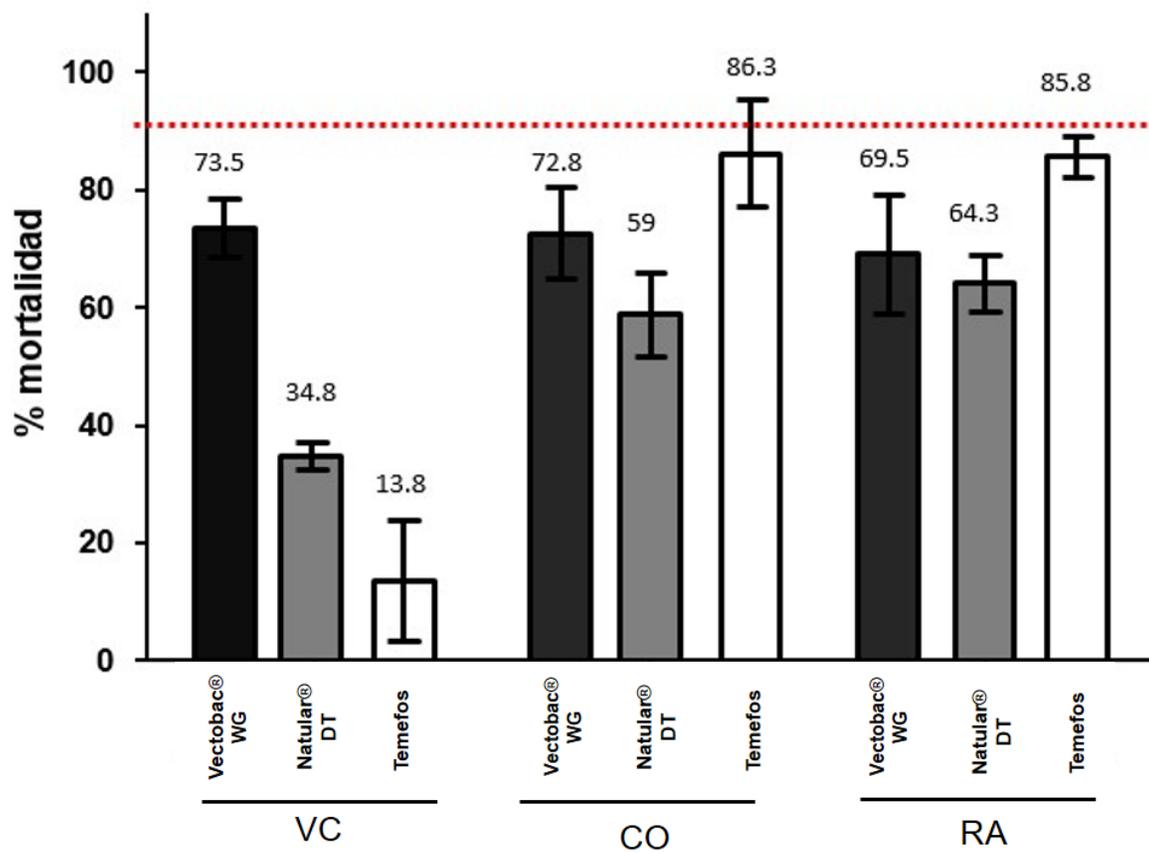


Figura 9: Comparación de mortalidad a la CL₉₀ de *Ae. albopictus* por insecticida analizado con respecto a las tres localidades.